



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**



**ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM (*LIPPIA GRACILIS SHAUER*) SOBRE O  
DESEMPENHO E A EXPRESSÃO GÊNICA DE CODORNAS JAPONESAS**

**GRAZIELLE FERREIRA ROCHA**

**Mestrado**

**2018**

**PROZOOTEC – PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA



**GRAZIELLE FERREIRA ROCHA**

**ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM (*LIPPIA GRACILIS SHAUER*) SOBRE O  
DESEMPENHO E A EXPRESSÃO GÊNICA DE CODORNAS JAPONESAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe como parte das exigências para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador: Prof. Dr. Gregório Murilo de Oliveira Júnior

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Paula Del Vesco

SÃO CRISTOVÃO-SE

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Rocha, Grazielle Ferreira.

R672o Óleo essencial de alecrim (*lippia gracilis shauer*) sobre o desempenho e a expressão gênica de codornas japonesas / Grazielle Ferreira Rocha; orientador Gregório Murilo de Oliveira Júnior. – São Cristóvão, 2018.

62 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Sergipe, 2018.

1. Essências e óleos essenciais. 2. Codorna. 3. Fisiologia. 4. Antioxidantes. 5. Nutrição animal. I. Oliveira Júnior, Gregório Murilo de, orient. II. Título.

CDU 636:665.52/.54

GRAZIELLE FERREIRA ROCHA

ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM (*LIPPIA GRACILIS SHAUER*) SOBRE O  
DESEMPENHO E A EXPRESSÃO GÊNICA DE CODORNAS JAPONESAS

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Sergipe  
como parte das exigências para  
obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 20 de julho de 2018.



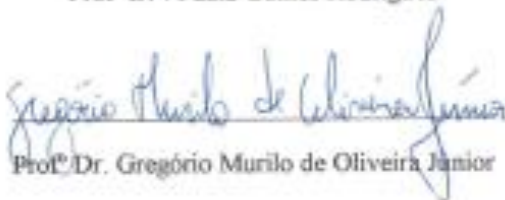
Prof<sup>o</sup> Dr. Claudson Oliveira Brito



Prof<sup>o</sup> Dr. Vitor Zancanela



Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup>. Paula Gomes Rodrigues



Prof<sup>o</sup> Dr. Gregório Murilo de Oliveira Júnior

SÃO CRISTOVÃO-SE

2018

Cada um de nós compõe a sua história, cada ser em si carrega o dom de ser capaz. E ser feliz.

*Almir Sater*

À Deus por permitir que eu chegasse até aqui.

Aos meus pais, Maria José Brito Ferreira Rocha e Gervasio dos Santos Rocha, pelo incentivo e apoio em todas as minhas escolhas e decisões.

DEDICO ESTE TRABALHO

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades.

Aos meus pais, meus maiores apoiadores, que nunca permitiram que eu desistisse.

Ao meu namorado Alan Cerqueira, que sempre ao meu lado compartilhou dos momentos felizes e das dificuldades.

Ao professor Gregório Murilo de Oliveira Júnior, pela orientação, paciência, dedicação e ensinamentos, fundamentais no meu crescimento profissional.

À professora Ana Paula Del Vesco, pelo apoio e por estar sempre presente, sendo fundamental no desenvolvimento desse trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PROZOOTEC) da UFS, que fizeram parte do meu processo de aprendizado e que colaboraram com a minha formação acadêmica.

À Marisa Bastos, Thais Pacheco e Vittor Zancanella pela ajuda no desenvolvimento das análises.

À professora Cláudia da Costa Lopes e aos colegas que ajudaram no desenvolvimento do experimento à campo.

Aos amigos adquiridos na UFS durante a realização do mestrado, especialmente Arlene Lima e Camilo Santos que tiveram grande participação nos ótimos momentos.

Aos Laboratórios de Bacteriologia do Departamento de Morfologia; de Fitotecnia do Departamento de Engenharia Agrônômica; de Melhoramento Genético e Biotecnologia do Departamento de Zootecnia; de Enzimologia do Departamento de Fisiologia e ao Campus Rural da Universidade Federal de Sergipe, fundamentais no desenvolvimento deste trabalho por disponibilizarem suas instalações.

Ao CNPQ – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo auxílio financeiro ao projeto, a FAPITEC – Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe, pela concessão da bolsa e ao PROMOB – Programa de Estimulo a Mobilidade e ao Aumento da Cooperação Acadêmica da Pós-Graduação em Sergipe pelo apoio ao PROZOOTEC.

À Universidade Federal de Sergipe e ao PROZOOTEC, pela oportunidade concedida para a realização do mestrado.

Aos integrantes da banca de defesa, pelas contribuições que certamente enriqueceram o trabalho.

## **BIOGRAFIA**

GRAZIELLE FERREIRA ROCHA, filha de Maria José Brito Ferreira Rocha e Gervásio dos Santos Rocha, nasceu em Conceição do Jacuípe, Estado da Bahia, no dia 24 de julho de 1991.

Cursou graduação em Zootecnia na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, no período de 2011 a 2016.

Em agosto de 2016, iniciou o mestrado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Sergipe, área de concentração Produção Animal – Alimentação e Nutrição animal, sob orientação do Professor Dr. Gregório Murilo de Oliveira Júnior e coorientação da Professora Dra. Ana Paula Del Vesco.

Em julho de 2018, submeteu-se à banca examinadora para defesa da Dissertação de mestrado.



## SUMÁRIO

Lista de tabelas.....	i
Lista de figuras.....	ii
Resumo.....	iii
Abstract .....	iv
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Coturnicultura no Brasil.....	3
2.2. Fisiologia do trato gastrointestinal das aves.....	4
2.3. População microbiana e desempenho de aves.....	5
2.4. Óleos essenciais.....	7
2.4.1 Alecrim ( <i>Lippia gracilis</i> Shauer) e suas propriedades .....	10
2.5. Parâmetros sanguíneos indicadores da função hepática e renal .....	13
2.6. Atividade antioxidante .....	15
2.7. Nutrição x genética.....	16
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18
CAPÍTULO 1 - ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM ( <i>LIPPIA GRACILIS</i> SHAUER) COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO PARA CODORNAS JAPONESAS EM CRESCIMENTO.....	32
Resumo.....	33
Abstract.....	34
1. INTRODUÇÃO .....	35
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	37
3. RESULTADOS.....	45
4. DISCUSSÃO .....	49
5. CONCLUSÃO .....	56
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

## Lista de Tabelas

### Capítulo 1 – ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM (*LIPPIA GRACILIS* SHAUER) COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO PARA CODORNAS JAPONESAS EM CRESCIMENTO

#### Página

<b>Tabela 1</b> - Composição percentual e calculada das dietas experimentais.....	39
<b>Tabela 2</b> - Primers para qRT-PCR .....	43
<b>Tabela 3</b> - Desempenho de codornas japonesas alimentadas com diferentes promotores de crescimento no período de 2 a 35 dias.....	45
<b>Tabela 4</b> - Microbiologia do conteúdo intestinal de codornas japonesas aos 35 dias de idade em função dos tratamentos .....	46
<b>Tabela 5</b> - Parâmetros sanguíneos de codornas japonesas alimentadas com diferentes promotores de crescimento .....	47
<b>Tabela 6</b> - Expressão de genes no intestino de codornas japonesas alimentadas com diferentes promotores de crescimento.....	48

## Lista de figuras

### REVISÃO DE LITERATURA

#### Página

<b>Figura 1-</b> Estrutura química do timol (1) e do carvacrol (2); principais constituintes do óleo essencial de alecrim ( <i>Lippia gracilllis shauer</i> ).....	11
<b>Figura 2-</b> Reação entre o carvacrol e o radical livre.....	12
<b>Capítulo 1 - ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM (<i>LIPPIA GRACILIS</i> SHAUER) COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO PARA CODORNAS JAPONESAS EM CRESCIMENTO</b>	
<b>Figura 3-</b> Concentração de TBARS (nmoles/mg de Proteína) no fígado de codornas japonesas em função dos tratamentos .....	46

ROCHA, Grazielle Ferreira. **Óleo essencial de alecrim (*Lippia gracilis shauer*) sobre o desempenho e a expressão gênica de codornas japonesas.** Sergipe: UFS, 2018. 62p. (Dissertação - Mestrado em Zootecnia)

**Resumo:** Os óleos essenciais aromáticos apresentam baixo risco de se acumularem nos tecidos animais, devido a rápida metabolização e meia-vida curta dos seus compostos ativos, que podem atuar diretamente sobre microrganismos patogênicos promovendo sua inibição. Sendo assim, tem potencial para serem utilizados como promotores de crescimento e, possivelmente, substituir os antibióticos e promotores comumente utilizados na dieta de animais. Os compostos fenólicos carvacrol e timol, componentes majoritários do óleo essencial de alecrim (*Lippia gracillis shauer*), são os principais responsáveis pela ação antimicrobiana e antioxidante do mesmo. No entanto, há poucas pesquisas para avaliar o efeito deste aditivo como promotor de crescimento em codornas. Deste modo, objetivou-se avaliar a ação do óleo essencial de alecrim como promotor de crescimento no organismo de codornas japonesas em crescimento. Foram utilizadas 252 codornas (*Coturnix coturnix japonica*), distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, dividido em três tratamentos, sete repetições e doze animais por unidade experimental do 2º ao 35º dia de idade. Os tratamentos foram: dieta basal, dieta basal com inclusão de 400mg/kg de óleo essencial de alecrim e dieta basal com inclusão de 500mg/kg de bacitracina metileno disalicilato (BMD). Foram avaliados os parâmetros desempenho, microbiologia intestinal, bioquímica do sangue, peroxidação lipídica no fígado de codornas e a expressão dos genes cotransportador de sódio-glicose 1 (*SGLT1*), transportador de glicose 2 (*GLUT2*), catalase (*CAT*) e glutathione peroxidase 7 (*GPX7*). Após o período experimental, 6 animais com o peso médio próximo da parcela de cada tratamento, foram eutanaseados para coleta de amostras de sangue, duodeno e fígado para análises posteriores. Para análise microbiológica outros dois animais de cada unidade experimental (14 animais por tratamento) foram eutanaseados para coleta do conteúdo intestinal. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas por meio do teste Tukey a 5% de probabilidade, com exceção da microbiologia que foi analisada descritivamente. Quando comparado ao antimicrobiano químico, o óleo essencial promoveu menor consumo de ração ( $P<0,01$ ) e melhor conversão alimentar ( $P<0,01$ ). Houve inibição do crescimento de *Escherichia coli* por parte dos dois promotores de crescimento, além disto, o antimicrobiano convencional proporcionou menor crescimento de *Salmonella ssp.* e o óleo essencial maior crescimento de *Lactobacillus ssp.* Não houve diferença ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos com relação a peroxidação lipídica no fígado e sobre a atividade das enzimas AST e ALT no sangue. Menores níveis de ácido úrico ( $P<0,01$ ) e creatinina ( $P<0,02$ ) foram encontrados no tratamento com antimicrobiano convencional comparado ao tratamento controle. As aves do tratamento controle apresentaram maior expressão de *SGLT1* ( $P<0,01$ ) e as do tratamento com adição de óleo essencial promoveram menor expressão de *CAT* e *GPX7* ( $P<0,05$ ). O óleo essencial de alecrim é um potencial melhorador de desempenho de codornas japonesas devido a sua capacidade de melhorar o ambiente intestinal, equilibrando a população microbiana e por reduzir o gasto energético empregado em processos oxidativos.

**Palavras-chave:** aditivos fitogênicos; antioxidante; biotecnologia; *Coturnix Coturnix japonica*; *Lippia gracillis shauer*

ROCHA, Grazielle Ferreira. **Óleo essencial de alecrim (*Lippia gracilis shauer*) sobre o desempenho e a expressão gênica de codornas japonesas.** Sergipe: UFS, 2018. 62p. (Dissertação - Mestrado em Zootecnia)

**Abstract:** Aromatic essential oils have a low risk of accumulating in animal tissues due to the rapid metabolization and short half-lives of their active compounds, which can act directly on pathogenic microorganisms promoting their inhibition. Thus, it has the potential to be used as growth promoters and, possibly, to replace the antibiotics and promoters commonly used in animal diets. The carvacrol and thymol phenolic compounds, major components of rosemary essential oil (*Lippia gracilllis shauer*), are the main responsible for antimicrobial and antioxidant action of this oil. However, there is little research to evaluate the effect this additive as growth promoter in quails. The objective was evaluate the action of rosemary essential oil as promoter of growth in the Japanese quail organism. A total of 252 quail (*Coturnix coturnix japonica*) were used, distributed in a completely randomized design, within three treatments, seven replicates and twelve animals per experimental unit of from 2 to 35 days of age. The treatments were: basal diet, basal diet with inclusion of 400 mg/kg of rosemary essential oil and basal diet with inclusion of 500 mg/kg of bacitracin methylene disalicylate (BMD). The parameters of performance, intestinal microbiology, blood biochemistry, lipid peroxidation in the quail duodenum, liver and genes expression of cotransporter Sodium-glucose 1 (SGLT1), glucose transporter 2 (GLUT2), catalase (CAT) and glutathione peroxidase 7 GPX7). After the experimental period, 6 birds with the average weight of the plot of each treatment were euthanized for collection of blood and liver samples for further analysis. For microbiological analysis, two other animals from each experimental unit (n=14) were euthanized to collect intestinal contents. The data were submitted to analysis of variance and the means were compared using the Tukey test at 5% probability, except for the microbiology that was analyzed descriptively. When compared to the chemical antimicrobial, the essential oil promoted lower feed intake ( $P<0.01$ ) and better feed conversion ( $P<0.01$ ). There was inhibition of *Escherichia coli* growth by the two growth promoters, and the conventional antimicrobial gave lower growth of *Salmonella* ssp. and the bigger growth essential oil of *Lactobacillus* ssp. There were no differences ( $P>0.05$ ) between treatments with regard to lipid peroxidation in the liver and on the activity of AST and ALT enzymes in the blood. Lower levels of uric acid ( $P<0.01$ ) and creatinine ( $P<0.02$ ) were found in the treatment with conventional antimicrobial compared to the control treatment. The birds of control treatment showed higher expression of SGLT1 ( $P<0.01$ ) and those of the treatment with addition of essential oil promoted lower expression of CAT and GPX7 ( $P<0.05$ ). Rosemary essential oil may be considered a substitute for antimicrobial growth promoters because it acts as a balancing agent for the intestinal microbiota and consequently improves the productive performance of growing Japanese quails.

**Keywords:** antioxidant; biotechnology; *Coturnix Coturnix japonica*; *Lippia gracilllis shauer*; phytogetic additives

## 1. INTRODUÇÃO

A coturnicultura é uma atividade propícia para sistemas intensivos e para a agricultura familiar em razão do acelerado desenvolvimento dos animais, precocidade produtiva, maturidade sexual precoce, exigência de pequenos espaços para as criações, alta produtividade e por requerer um investimento inicial relativamente baixo quando comparado a outros sistemas; fatores estes que proporcionam rápido retorno financeiro ao produtor (PASTORE *et al.*, 2012).

Contudo, os sistemas de criação atuais, principalmente em criações intensivas, podem proporcionar maior desafio sanitário às codornas devido à maior densidade de aves por metro quadrado, fato que pode ocasionar maior susceptibilidade dos animais aos patógenos e seus vetores. Desta maneira, vêm sendo utilizados promotores de crescimento a fim de manter a produtividade e qualidade na produção.

O uso de óleos essenciais tem sido cada vez mais estudado devido à possibilidade de resistência bacteriana dos antimicrobianos comerciais e transmissão cruzada de bactérias patogênicas em humanos; fato este considerado como ponto de estrangulamento na comercialização do produto. Assim, torna-se necessário buscar alternativas naturais que visam substituir o uso de antimicrobianos como promotores de crescimento com o intuito de atender às exigências de mercado, obter produtos sustentáveis e manter ou melhorar o desempenho das aves.

Dentro deste conceito, os óleos essenciais tem se mostrado uma alternativa viável por apresentarem efeito antimicrobiano (JANG *et al.*, 2007; SANTURIO *et al.*, 2007), além de outras propriedades, tais como estímulo das enzimas digestivas e pancreáticas (JANG *et al.*, 2007; BASMACIOĞLU MALAYOĞLU *et al.*, 2010) e efeito antioxidante (RACANICCI *et al.*, 2004; 2008; TRAESEL *et al.*, 2011a).

O alecrim (*Lippia gracillis shauer*) é uma planta pertencente à família Verbenaceae, originária da região Nordeste do Brasil, possui aproximadamente 2,5 m de altura, folhas pequenas, flores brancas e são capazes de produzir óleos essenciais; os quais apresentam em sua composição p-cimeno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -cariofileno, 4-terpineol,  $\gamma$ -terpineno (BITU *et al.*, 2012), sendo o timol e o carvacrol, os princípios ativos em maior concentração (ALBURQUERQUE *et al.*, 2006; BITU *et al.*, 2012).

Os óleos essenciais de alecrim são conhecidos por apresentarem propriedades estomacais, antiespasmóticas, cicatrizantes, antibacterianas e antioxidantes (MAY *et al.*, 2010; GUIDOTTI, 2011). A composição química do óleo pode apresentar variação de acordo com fatores ambientais e manejo das plantas, bem como a forma de extração e

armazenamento, características que podem interferir em sua atividade antimicrobiana (NASCIMENTO *et al.*, 2007).

O mecanismo de ação dos óleos essenciais pode variar conforme o princípio ativo avaliado. O carvacrol e o timol, componentes do óleo essencial de alecrim por exemplo, possuem grande capacidade de substituir os antibióticos, sendo o carvacrol, mais eficiente na ação contra leveduras, fungos e microrganismos gram-positivos e gram-negativos, com amplo espectro antibacteriano (SUZUKI *et al.*, 2008). Esses princípios ativos tornam permeável a membrana celular, provocando a desintegração da membrana externa e dessa forma, interrompe as funções necessárias a sobrevivência desses microrganismos (SUZUKI *et al.*, 2008).

Visto que há poucas pesquisas relacionadas ao uso de óleos essenciais e seus benefícios na produção de codornas japonesas, em especial com óleo de alecrim, objetivou-se avaliar a ação do óleo essencial de alecrim como alternativa ao uso de antimicrobianos comerciais melhoradores de desempenho em dietas de codornas japonesas em fase de crescimento.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Coturnicultura no Brasil

As codornas pertencem à família Fasianídeos (Phasianidae), mesma família das galinhas e perdizes e são da sub-família dos Perdicionidae, oriundas do norte da África, Europa e Ásia (PINTO *et al.*, 2002).

A partir de 1910, os japoneses deram início a estudos e cruzamentos entre as codornas provindas da Europa e espécies nativas, até chegar na *Coturnix coturnix japônica*, codorna de postura domesticada. Desde então, teve início sua exploração comercial, com finalidade para produção de carne e ovos (REIS, 1980). Atualmente, existem duas linhagens geneticamente melhoradas: uma para produção de ovos, a *Coturnix coturnix japônica* (BRASIL, 2010) e outra para produção de carne, a *Coturnix coturnix coturnix* (PASTORE *et al.*, 2012).

A coturnicultura é um setor da avicultura que está em pleno desenvolvimento, tanto para produção de ovos quanto para carne, com produtividade e rentabilidade que têm despertado interesse dos produtores. Em 2016, a criação de codornas registrou um efetivo de 15,10 milhões de unidades desta espécie, independente da finalidade da criação, sendo a região Sudeste responsável por 66,9% do efetivo nacional, com destaque para o estado de São Paulo que concentra 37,8% do total de animais alojados (IBGE, 2016).

O rebanho efetivo de codornas se difunde por todo o Brasil, demonstrando o grande interesse dos produtores pela espécie, em especial pelas codornas de postura. Ainda segundo IBGE (2016), a produção de ovos de codornas foi de 273,30 milhões de dúzias, mantendo a região sudeste e o estado de São Paulo como os maiores produtores. O valor da produção total foi estimado em 265,76 milhões (IBGE, 2016).

O Brasil é o segundo maior produtor de ovos de codornas no mundo, com expansão nas diferentes regiões do país devido à grande adaptabilidade das codornas aos diversos tipos de clima e aos diferentes tipos de manejo, além de uma nutrição especializada que vem sendo aperfeiçoada nos últimos anos.

Devido ao maior conhecimento das demandas das aves, vêm surgindo também criações automatizadas e novas formas de comercialização do ovo e da carcaça de codornas, onde a *Coturnix coturnix japônica*, linhagem de baixo peso corporal para produção de ovos, é a subespécie com maior expansão (Silva *et al.*, 2012).

A coturnicultura se apresenta como uma atividade com bons rendimentos e proporciona boas perspectivas de crescimento para os próximos anos, se tornando uma das



culturas de grande importância para o país. Porém, se faz necessário mais pesquisa no que se refere a coturnicultura para melhor produção e expansão desta por todo o país.

## **2.2. Fisiologia do trato gastrointestinal das aves**

As codornas diferem em comportamento, fisiologia, eficiência alimentar e produtividade com relação às demais aves (MURAKAMI & FURLAN, 2002; SILVA *et al.*, 2007). Em termos comparativos, as codornas diferem das galinhas devido a rápida taxa de passagem dos alimentos pelo intestino (1 a 1,5 vs. 3 a 5 horas), fato que influencia a digestibilidade e o aproveitamento dos ingredientes pelas aves.

As codornas são capazes de aproveitar melhor a energia proveniente da fibra da ração devido ao maior tamanho relativo do ceco (SAKAMOTO *et al.*, 2006) e são mais precoces quanto ao início da postura, a qual se dá por volta de 40 dias, enquanto que as galinhas poedeiras em torno de 120 dias. Estas diferenças de fisiologia e rusticidade, assim como comportamentais, caracterizam as codornas como animais mais precoces; bem como mais tolerantes a altas temperaturas e doenças que comumente acometem outras aves (JORDÃO FILHO, 2008).

O bom desempenho das aves está diretamente relacionado, dentre outros fatores, com a nutrição das mesmas, portanto, é necessário que se mantenha a integridade do trato digestório, através de técnicas de manejo e nutricionais que proporcionem maior ingestão do alimento, alterações físicas e químicas deste durante a passagem pelo trato e melhor absorção dos produtos da digestão (FERNANDES, 2012). O conhecimento morfofisiológico do sistema digestivo é imprescindível para aplicação dessas técnicas.

Na eclosão, o sistema digestório da ave está anatomicamente completo, porém, há necessidade de sofrer processos adaptativos para adquirir adequada eficiência nos processos de digestão e absorção de todos os nutrientes (SANTOS *et al.*, 2012). Portanto, as aves mais jovens, por ainda apresentarem o sistema digestivo em desenvolvimento, não possuem a mesma capacidade de digestão e absorção de nutrientes quando comparadas as aves mais velhas, que possuem maior tamanho do trato digestivo, maior produção de enzimas e secreções gástricas, consequentemente, melhor aproveitamento dos alimentos (BRUMANO *et al.*, 2006).

O intestino delgado é responsável pela maioria dos processos que envolvem a digestão e absorção dos nutrientes. No decorrer do desenvolvimento das aves, o intestino delgado sofre alterações como aumento de comprimento, altura e densidade dos vilos, no

número e volume de suas células (enterócitos, caliciformes, enteroendocrinas) (SANTOS et al., 2012).

Segundo ITO et al., (2004) o comprimento e o diâmetro do intestino variam entre indivíduos e podem ser influenciados por alguns fatores, tais como: tipo de dieta, presença de aditivo alimentar ou promotor de crescimento adicionado à ração; presença de microbiota bacteriana, incidência de doenças entéricas e intensidade de desenvolvimento corporal na fase inicial até 14 dias de idade.

Além do desenvolvimento anatômico, há alterações fisiológicas que proporcionam melhor eficiência das funções digestivas, através do aumento na produção de enzimas digestivas, possibilitando o aumento no aproveitamento da ração (MURAROLLI, 2008; SANTOS et al., 2012). As enzimas digestivas são responsáveis pela quebra dos alimentos no lúmen intestinal. Entretanto, parte da digestão ocorre na superfície das vilosidades formadas por células da mucosa, denominados de enterócitos, onde também há presença de enzimas de membrana. Por estes motivos, a integridade das células intestinais é importante para a absorção dos nutrientes (MACARI; FURLAN, 2005).

A manutenção da integridade do trato gastrointestinal é essencial para se obter uma boa produtividade, principalmente pela melhoria da absorção dos nutrientes e pelo menor desenvolvimento e aderência de microrganismos patogênicos na mucosa intestinal, o que evita a propagação de doenças entéricas que podem vir a prejudicar o desempenho (EDENS, 2003). A utilização de promotores de crescimento que favorecem a integridade intestinal pode levar, conseqüentemente, a melhores resultados no desempenho animal.

### **2.3. População microbiana e desempenho de aves**

A vida do homem e dos animais tem importante relação com os microrganismos presentes no corpo, pois a microbiota intestinal exerce papel fundamental na saúde, bem-estar e na produtividade dos animais (CALLAWAY *et al.*, 2008). Contudo, a população microbiana no organismo é dependente do tipo de dieta que o animal consome.

Dentro deste conceito, a alteração de pH, secreções enzimáticas, velocidade de passagem do bolo alimentar e até mesmo a concentração de ácidos graxos voláteis interferem na população da microbiota encontrada ao longo do trato gastrointestinal (LU *et al.*, 2003) e, por consequência, irá interferir no desempenho das aves.

Cerca de 90% da microbiota intestinal das aves é composta por bactérias do gênero *Lactobacillus*., *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, sendo os 10%

restantes composta por *Escherichia coli*, *Clostridium* spp., e *Salmonella* spp., bactérias consideradas patogênicas (NÉVOA *et al.*, 2013).

Os *Lactobacillus*, que fazem parte da microbiota natural, estimulam a secreção de imunoglobulina IgA intestinal que auxilia na imunidade e também atuam contra o crescimento de bactérias indesejáveis (ANDREATTI-FILHO, 2007). Além disso, pelo fato de produzirem ácido lático e acético, reduzem o pH, consequentemente dificultam o crescimento de bactérias patogênicas (FIGUEIRA *et al.*, 2014).

Outro grupo benéfico que também faz parte da microbiota intestinal é o gênero *Bifidobacterium*. As bactérias pertencentes a esse grupo são capazes de produzir lactato e acetato e assim desempenham ações tais como a redução do pH do meio, efeito antibacteriano, favorecem a produção de vitaminas do grupo B e bacteriocinas, intensificam o sistema imune mediante ativação de macrófagos contra células malignas, auxiliam na digestão e absorção de nutrientes pelo seu envolvimento com a bioquímica intestinal, especialmente em relação à ação sobre os sais biliares (LEAHY *et al.*, 2005; ANDREATTI FILHO, 2007; FIGUEIRA *et al.*, 2014).

As bactérias comensais proporcionam maior atividade de enzimas digestivas, maior disponibilidade de nutrientes tais como ácidos graxos de cadeia curta, aminoácidos e vitaminas e redução da colonização de bactérias indesejáveis comparados aos patógenos específicos livres (WILLING & VAN KESSEL, 2009). A população da microbiota também pode afetar a morfometria da parede intestinal e induzir as reações imunes adaptativa e inata, que podem interferir no gasto energético do animal (HUMPHREY & KLASING, 2004; TEIRLYNCK *et al.*, 2009).

A presença de uma microbiota benéfica no trato gastrointestinal é um fator importante na otimização da digestão e absorção dos nutrientes indispensáveis para se obter boa produtividade, visto que a colonização de microrganismos benéficos podem provocar equilíbrio através da competição por sítios de ligação na mucosa e pela produção de ácidos orgânicos e bacteriocinas (ITO *et al.*, 2004; VASCONCELOS *et al.*, 2016). Entretanto, algumas bactérias que compõe a microbiota normal de aves, produzem enzimas que afetam a integridade da mucosa intestinal e competem por nutrientes com o hospedeiro, o que pode exercer efeitos deletérios sobre o desempenho dos animais (OVIEDO-RONDÓN, 2009).

Os microrganismos indesejáveis presentes na microbiota intestinal são representados principalmente por *Escherichia coli*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* e *Salmonellas* (DIAS, 2011). Existe um equilíbrio na população microbiana quando o trato gastrointestinal se encontra em condições normais. No entanto, situações como jejum

prolongado, estresse e infecções virais provocam aumento da população de microrganismos indesejáveis, que por consequência, podem romper a integridade intestinal, permitindo a entrada de substâncias e/ou interrompendo o transporte de nutrientes, aumentam a espessura da mucosa e a velocidade de passagem da digesta promovendo redução na absorção de nutrientes. Fatos estes que podem levar a déficits nutricionais e imunológicos que resultam no aumento de doenças e desordens gastrointestinais (FLEMMING & FREITAS, 2005; BUDKA, 2007) ocasionando declínio na produção destes animais.

A utilização de antimicrobianos promotores de crescimento na ração dos animais de produção tem como objetivo promover a redução e/ou a morte dos microrganismos indesejáveis, assim como podem interromper seu crescimento e sua reprodução (COSTA et al., 2007), por agirem sobre a estrutura do microrganismo, penetrando a célula e, provocando a inibição do processo metabólico essencial à vida ou o desenvolvimento desses organismos (SANTOS et al. 2008).

## **2.4. Óleos essenciais**

Na produção animal, a busca por aditivos que venham substituir os antibióticos como promotores de crescimento e beneficiar a microbiota intestinal tem sido cada vez maior. Com isso, plantas aromáticas e seus óleos essenciais têm despertado grande interesse da comunidade científica como uma alternativa aos antimicrobianos químicos em animais de interesse zootécnico (VALERO *et al.*, 2014). Esses produtos naturais possuem vantagens sobre antibióticos comerciais frequentemente utilizados, pois apresentam pequena capacidade de deixar resíduos, na maioria das vezes são reconhecidos pelos consumidores como produtos seguros, além de serem bastante usados na indústria de alimentos (BRENES & ROURA, 2010).

Estudos envolvendo óleos essenciais na alimentação animal cresceram significativamente na Europa, entretanto, os efeitos dessas inclusões na alimentação animal não estão totalmente esclarecidos e existem poucas pesquisas com aplicações *in vivo* (KOIYAMA *et al.*, 2014), sobretudo com codornas. No Brasil, o assunto ainda é recente e o número de trabalhos é escasso (RIZZO, 2008), portanto são necessárias mais pesquisas para melhor compreensão dos benefícios da utilização de óleos essenciais e de seus constituintes na produção animal.

Os óleos essenciais são constituídos por complexas misturas de substâncias voláteis, geralmente lipofílicas (TEIXEIRA *et al.*, 2013), incluindo uma série de hidrocarbonetos terpênicos, ésteres, ácidos orgânicos, aldeídos, cetonas, fenóis, entre outros, os quais se

apresentam em diferentes concentrações na planta (BONA *et al.*, 2012). As técnicas utilizadas para obtenção dos óleos essenciais podem ser a destilação a vapor d'água ou a atividade enzimática seguida de destilação a vapor d'água (TOLEDO *et al.*, 2007).

Fatores biológicos tais como a espécie de planta, local de plantio e condições de colheita; de produção, como o tipo de extração, destilação e estabilidade e; condições de armazenamento, como a intensidade da luz, temperatura, tensão de oxigênio e tempo de estocagem, podem influenciar na composição dos óleos essenciais (HUYGHEBAERT *et al.*, 2011), em especial dos princípios ativos. A existência desses fatores pode alterar a qualidade dos óleos essenciais e influenciar a resposta sobre o desempenho dos animais.

Os princípios ativos são substâncias provenientes do metabolismo secundário das plantas e são responsáveis pelos efeitos terapêuticos das mesmas (FERNANDES *et al.*, 2015). Em uma mesma planta pode existir mais de um princípio ativo em diferentes concentrações e estes também podem estar presente em outras plantas em concentrações diferentes (KOIYAMA, 2012). Ainda pode ocorrer sinergismo entre óleos essenciais e/ou seus princípios ativos tornando-os mais eficazes (ZHANG *et al.*, 2005).

Os princípios ativos dos extratos vegetais são absorvidos no intestino pelos enterócitos e metabolizados rapidamente no organismo dos animais, sendo esses eliminados pela urina, através da formação de compostos polares ou pela respiração como CO<sub>2</sub> (RIZZO, 2008). A rápida metabolização e curta meia-vida dos compostos ativos não permite seu acúmulo nos tecidos, devido a esse fato, são poucos os riscos existentes (BARRETO, 2007).

Diferentes estudos comprovam que os aditivos fitogênicos possuem efeito antioxidante (RACANICCI *et al.*, 2004; 2008; TRAESEL *et al.* 2011a), atuam sobre microrganismos patogênicos encontrados no intestino das aves (OVIEDO-RONDÓN *et al.*, 2006; JANG *et al.*, 2007; SANTURIO *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2009; BONA *et al.* 2012) e melhoram o desempenho de frangos de corte (AGOSTINI *et al.*, 2012; CARDOSO *et al.*, 2012; HONG *et al.*, 2012; KOIYAMA *et al.*, 2014).

O aumento da palatabilidade, consequentemente o aumento do consumo de ração, estímulo a secreção de enzimas digestivas, endócrina e da resposta imune, aumento da motilidade gástrica e intestinal, atividade antibacteriana, antiviral, antihelmíntica, coccidiostática, antiinflamatória e antioxidante e ação pigmentante são algumas das ações provocadas pela utilização de óleos essenciais (BASMACIOĞLU MALAYOĞLU *et al.*, 2010), o que podem torna-los potenciais substitutos dos antibióticos melhoradores do desempenho.

A adição de óleos essenciais na alimentação de aves evita que bactérias patogênicas se alojem na mucosa intestinal, proporcionando melhorias na flora intestinal e, conseqüentemente, no desempenho produtivo (FERNANDEZ et al., 2015). A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais provoca benefícios para os animais de produção. No entanto, não há total esclarecimento quanto o método de ação destes antimicrobianos (LEITE et al., 2012).

Segundo BONA *et al.* (2012), a maioria dos óleos essenciais desempenha seu efeito antimicrobiano através de sua ação na estrutura da parede celular bacteriana, desnaturando e coagulando as proteínas. A alteração da permeabilidade da membrana das paredes celulares das bactérias ocorre devido ao caráter lipofílico dos óleos essenciais que se acumulam nas membranas, de forma que alteram a permeabilidade da membrana citoplasmática por íons de hidrogênio (H<sup>+</sup>) e potássio (K<sup>+</sup>) (RIZZO, 2008).

A alteração dos gradientes dos íons prejudica os processos essenciais da célula como transporte de elétrons, translocação de proteínas, fases da fosforilação e também outras reações dependentes de enzimas, causando perda do controle quimiosmótico da célula afetada e, por conseguinte, morte bacteriana (DORMAN & DEANS, 2000).

Entretanto, apesar dos óleos essenciais e seus componentes serem conhecidos pela sua ação contra uma série de microrganismos (FERRO et al., 2016), autores demonstram que bactérias gram-positivas são mais sensíveis quando comparadas as bactérias gram-negativas (HENTZ & SANTIM, 2007; SOARES et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2014).

Todas as bactérias gram-negativas possuem uma membrana externa composta por moléculas de lipopolissacarídeos que lhes conferem uma superfície hidrofílica, que dificulta à permeabilidade das substâncias hidrofóbicas tais como os óleos essenciais, o que aumenta a resistência de bactérias gram-negativas a esses aditivos (DORMAN & DEANS, 2000).

O lipopolissacarídeo que compõe a membrana externa das bactérias gram-negativas é composto por três unidades distintas: um fosfolípídeo denominado lipídio A, responsável pelo efeito tóxico; um cerne polissacarídeo composto por cinco açúcares ligados ao lipídeo A e um polissacarídeo externo, consistindo em até 25 unidades repetidas de três a cinco açúcares, correspondente ao antígeno somático, ou O. Sendo o lipídeo A localizado na porção mais interna da molécula e a porção polissacarídica localizada acima, em direção ao exterior (LEVINSON, 2016).

Os óleos essenciais também podem atuar sobre o epitélio intestinal, provocando alterações morfo-histológicas do trato gastrointestinal, estimulando a produção de enzimas

digestivas e pancreáticas, promovendo o aumento da digestibilidade e absorção de nutrientes (HERNÁNDEZ *et al.* 2004; OETTING *et al.* 2006).

ZANINI *et al.*, (2011) *et al.* e JAMROZ *et al.* (2006) observaram melhoria na morfometria intestinal de frangos de corte com o uso de 0,4 % de óleo essencial de aroeira e de 100mg/kg de extrato vegetal contendo 5% de carvacrol, 3% de cinamaldeído e 2% de oleorresina de capsicum, respectivamente. Assim como Jang *et al.* (2007) e Basmacioğlu malayoğlu *et al.* (2010) que relataram melhoria na função digestiva de frangos alimentados com dieta contendo mistura comercial de óleos essencial e óleo essencial de orégano, respectivamente, ambos contendo o princípio ativo timol. A adição de 50 mg/kg da mistura comercial de óleo essencial a dieta aumentou a atividade de amilase pancreática e de maltase no intestino em relação à dieta basal (JANG *et al.*, 2007). A suplementação de 250 mg/kg e 500 mg/kg de óleo essencial de orégano elevou a atividade intestinal de quimiotripsina e a digestibilidade proteica (BASMACIOĞLU MALAYOĞLU *et al.*, 2010).

Dentre as diversas espécies e variedades de plantas que possuem algum princípio ativo, estudos relatam que o alecrim (*Rosmarinus officinalis*) possui atividade antimicrobiana, antioxidante e antifúngica quando utilizada isoladamente ou em conjunto a outros óleos essenciais (BONA *et al.*, 2012; TRAESEL *et al.*, 2011b; CLEFF *et al.*, 2012).

#### **2.4.1 Alecrim (*Lippia gracilis shauer*) e suas propriedades**

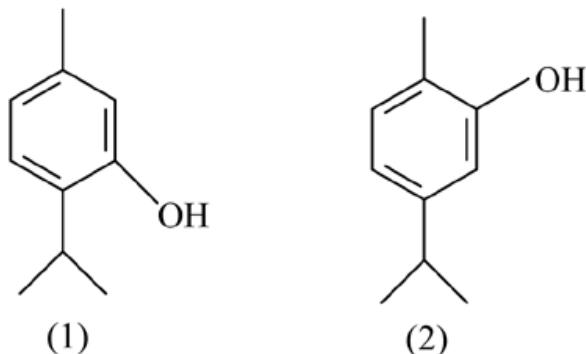
A espécie *Lippia gracilis shauer*, conhecida usualmente como alecrim-da-chapada ou alecrim-de-serrote, pertence à Família Verbenaceae e é encontrada na região semiárida do nordeste brasileiro, principalmente nos estados do Piauí, Bahia, Sergipe, Paraíba e Pernambuco (GOMES *et al.*, 2011). É um subarbusto pouco ramificado, com folhas aromáticas que produzem óleos essenciais ricos, principalmente em compostos fenólicos como timol e carvacrol (ALBUQUERQUE, 2006). Entretanto, estudos demonstram variações quantitativas na composição química do óleo essencial, provavelmente devido a variações genéticas, não padronização de cultivos e efeitos do clima (GOMES *et al.*, 2011).

Os compostos químicos presentes no óleo essencial, principalmente os monoterpenos carvacrol e timol, das espécies do gênero *Lippia* tem apresentado forte ação contra bactérias e fungos (GOMES *et al.*, 2011). Albuquerque *et al.* (2006) ao avaliarem a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia gracilis shauer* sobre fungos contaminantes de laboratórios de cultura de tecidos vegetais e bactérias endofíticas de helicônias, demonstraram que o óleo essencial da *L. gracilis shauer* possui ação antimicrobiana contra estes. Neste caso, ocorreu 100% de inibição contra os fungos *Geotrichum candidum*, *Trichoderma viride*,

*Torula herbarum*, *Paecilomyces sp*, *Aspergillus nidulans*, *Fusicoccum sp*, *Aspergillus flavus* e *Paecilomyces aeruginens*; 95,58% contra *Curvularia lunata* e de 89,40% contra *Aspergillus niger*, com a utilização do óleo essencial.

Ainda de acordo com Albuquerque *et al.* (2006), as bactérias *Salmonella choleraesuis-diarizonae*, *Enterobacter asburiae*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus pumilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter hormaechei* e *Bacillus cereus* também foram inibidas na presença do óleo essencial de *L. gracilis*, através do método de plaqueamento, sendo esta ação associada à presença dos monoterpenos fenólicos carvacrol (41,77%) e do timol (10,13%).

O timol (5-metil-2-(1-metiletil)- fenol) e seu isômero carvacrol (2-metil-5-(1-metiletil)-fenol) (**Figura 1**) são monoterpenos contidos em diversas plantas aromáticas sendo biossintetizados a partir do  $\gamma$ -terpineno e do  $p$ -cimeno (NOSTRO & PAPALIA, 2012). Ambos possuem fórmulas moleculares similares ( $C_{10}H_{14}O$ ) e pesos moleculares de 150,22 g mol<sup>-1</sup>, porém o carvacrol em temperatura ambiente apresenta-se na forma líquida, cuja solubilidade em água é de 830  $\pm$  10 ppm (NOSTRO & PAPALIA, 2012), enquanto que timol se encontra na forma de cristais (HOLLAND *et al.*, 2014).



**Figura 1.** Estrutura química do timol (1) e do carvacrol (2); principais constituintes do óleo essencial de alecrim (*Lippia gracilllis shauer*). Fonte: LIMA & CARDOSO (2007)

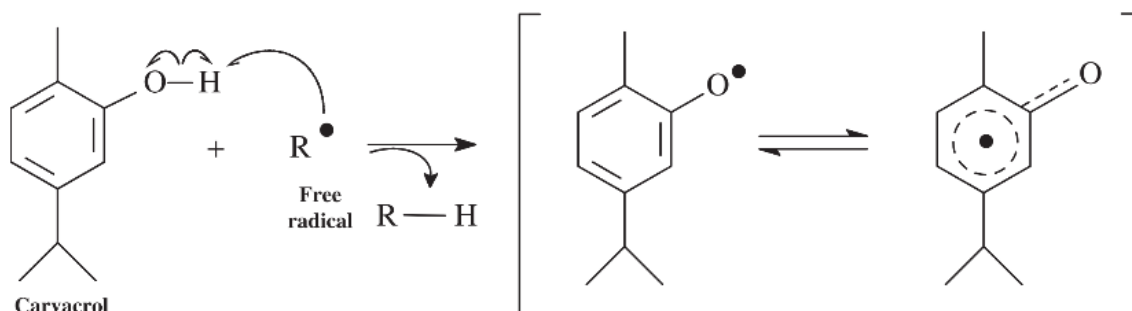
Estudos têm demonstrado que a atividade antimicrobiana no trato gastrointestinal dos animais está relacionada principalmente com a interação que estes compostos possuem com as membranas celulares dos diferentes microrganismos. O mecanismo de ação do timol e do carvacrol, deve-se a capacidade que estes apresentam em atravessar a membrana celular do microrganismo provocando alterações; capacidade esta que pode estar relacionada com as propriedades físico-químicas destas moléculas, considerando suas características lipofílicas e, ao mesmo tempo, devido a sua solubilidade em água (CRISTANI *et al.*, 2007; XU *et*



*al.*,2008; HAMMER & HEEL, 2012; LA STORIA *et al.*,2011). A atividade antibacteriana pode ter relação com apenas um dos seus principais constituintes químicos, porém estudos afirmam que essa atividade também depende das interações entre eles (MICHIELS *et al.*,2007; GARCÍA-GARCÍA *et al.*,2011).

Segundo Singh *et al.* (2010), a ação antimicrobiana dos compostos fenólicos se dá através da regulação do metabolismo intermediário, ativando ou bloqueando reações enzimáticas, que interferem diretamente na síntese enzimática, seja em nível nuclear ou ribossomal, ou até mesmo alterando as estruturas de membranas dos microrganismos, evitando seu crescimento ou multiplicação.

Além da ação antimicrobiana, os compostos fenólicos presentes em muitos óleos essenciais apresentam ação antioxidante, pois agem como doadores de hidrogênio e, dessa forma, reduzem a produção de peróxidos de hidrogênio (PEREIRA & MAIA, 2007). Com isso, o potencial antioxidante de um óleo essencial e seus compostos deve-se principalmente a capacidade de capturar radicais livres e a extinção do oxigênio reativo (LOIZZO *et al.*, 2009) (**Figura 2**).



**Figura 2.** Reação entre o carvacrol e o radical livre. Fonte: GUIMARÃES *et al.* (2010)

LUNA *et al.* (2010) ao avaliarem a atividade antioxidante lipídica sobre a carcaça de frangos de corte Coob 500, observaram que a suplementação de 150 mg/kg de carvacrol ou de timol na ração teve a mesma eficácia que a suplementação com 150 mg/kg de BHT (hidroxitolueno butilado), antioxidante comumente usado como aditivo alimentar.

São escassos os trabalhos científicos que utilizaram o óleo de alecrim (*Lippia gracilis shauer*) na dieta de aves como aditivo fitogênico. Devido à potencialidade que os compostos ativos apresentam diante de bactérias patogênicas e fungos, atividade antioxidante, assim como seu potencial como melhoradores de desempenho, o óleo essencial do alecrim torna-se um potencial aditivo a ser testado para ser adicionado às dietas de codornas.

## 2.5. Parâmetros sanguíneos indicadores da função hepática e renal

O fígado é um órgão que desempenha funções importantes, principalmente quanto ao processo homeostático, participando dos processos de digestão e de absorção intestinal através da síntese dos ácidos biliares, do metabolismo de carboidratos, proteínas e dos nucleotídeos, além de fundamentais funções na desintoxicação de metabólitos (BARBOSA *et al.*, 2010).

Deste modo, a análise das atividades de enzimas de determinadas vias torna-se importante para que haja conhecimento de seu *status* metabólico e possíveis alterações na atividade enzimática quando exposto a alterações de ambiente e de dietas (BARBOSA *et al.*, 2010). Vale ressaltar que valores elevados de uma enzima normalmente pressupõe o grau de lesão do órgão (CAPITELLI & CROSTA, 2013), por isto, muitas vezes a mensuração da concentração de enzimas específicas são essenciais.

As enzimas são proteínas responsáveis por catalisar as reações químicas que ocorrem nos sistemas biológicos, em que possuem um elevado grau de especificidade sobre seus substratos acelerando reações específicas sem sofrer alterações ou serem consumidas durante o processo. As enzimas celulares, a exemplo das transaminases, normalmente apresentam baixos teores séricos. No entanto quando há lesões nos tecidos os níveis aumentam, sendo esta alteração dependente do conteúdo enzimático no tecido envolvido, da extensão e do tipo de necrose (MOTTA, 2003).

Nas aves, a enzima Alanina aminotransferase (ALT) também conhecida como transaminase glutâmica pirúvica (TGP) é predominante no citosol dos hepatócitos e das células musculares (HARR, 2002; JAENSCH, 2000). Como outras transaminases, participa do catabolismo de aminoácidos, cataliza a transaminação reversível da L-alanina e o 2-oxoglutarato a piruvato e L-glutamato e no transporte de nitrogênio entre os órgãos. É necessário o cofator piroxidal 5 fosfato (PP), encontrado no soro em quantidades suficientes para garantir a funcionalidade máxima da ALT (KANEKO *et al.*, 2008). Como não é uma enzima hepatoespecífica, quando em altas concentrações no soro de aves, representa lesões severas do fígado e/ou na musculatura esquelética (CEPEDA *et al.*, 2016).

A enzima Aspartato aminotransferase (AST) ou transaminase glutâmica oxalacética (TGO) está presente em diversos tecidos, principalmente no fígado e no músculo, também é uma transaminase e tem como função catalizar a transaminação de L-aspartato e 2-oxoglutarato a oxalacetato e glutamato, respectivamente (EVANS, 1996). Assim como na ALT, ela também precisa do cofator PP para exercer seu poder de atuação (CAPITELLI &

CROSTA, 2013). Altas concentrações de AST no soro de aves é um indicativo de problemas metabólicos no fígado. Entretanto alteração em seus níveis também pode ser devido a lesões musculares, geralmente comprovados concomitantemente ao aumento da creatinina quinase (CK) (TRAESSEL *et al.*, 2011b). Por outro lado, menores concentrações podem interferir nas corretas relações dos aminoácidos para a síntese proteica no fígado, tendo em vista seu papel central na transferência de grupos aminos (BARBOSA *et al.*, 2010).

Além dos indicativos da função hepática também é importante a avaliação da função renal, visto que, o sistema renal é responsável pela regulação dos líquidos e eletrólitos e pela eliminação dos resíduos metabólicos, essenciais à homeostase corpórea (MOTTA, 2003). Portanto, alterações em alguns parâmetros tais como, o ácido úrico pode ser indicativo de problemas relacionado ao sistema renal.

O ácido úrico é a forma principal de excreção de componentes nitrogenados nas aves (HOCHLEITHNER, 1994; THRALL *et al.*, 2004). Por apresentar mecanismo de secreção tubular ativa, os seus níveis não são influenciados por fenômenos de desidratação, com exceção daqueles casos muito graves nos quais a baixa taxa de filtração glomerular não permite a movimentação do ácido úrico através dos túbulos (HARR, 2002; CAPITELLI & CROSTA, 2013).

O ácido úrico é produto do metabolismo das proteínas, do nitrogênio proteico e das purinas em aves. É sintetizado no fígado e cerca de 80% a 90% destes é secretado de forma ativa nos túbulos proximais em aves normais (SCHMIDT *et al.*, 2007). Elevações nos níveis de ácido úrico no sangue podem comprometer a função renal, sendo que valores acima de 15mg/dL podem levar à gota úrica, formação de depósitos de urato nos rins, urolitíase e lesão renal com insuficiência crônica do órgão, o que pode causar o óbito do animal (CAMPBELL, 2006; CAPITELLI & CROSTA, 2013). Animais jovens tendem a apresentar maiores concentrações de ácido úrico que adultos. Portanto, assim como a idade, a espécie e a dieta também podem interferir nas concentrações sanguíneas de ácido úrico (SCHMIDT *et al.*, 2007).

A importância de se avaliar a concentração do ácido úrico está relacionada com o monitoramento e a progressão de doenças, caso haja altas concentrações no plasma pode ocorrer a precipitação desse ácido em forma de cristais, acumulando-se nos tecidos, principalmente nas articulações sinoviais e na superfície das vísceras, implicando em uma disfunção renal severa (THRALL *et al.*, 2004; CAPITELLI & CROSTA, 2013).

Além do ácido úrico, alterações nas concentrações de creatinina nas aves também pode estar relacionada a doença renal, sendo essencial avaliá-la no organismo dos animais.

Sua excreção é por via renal e o aumento nas suas concentrações é raro, porém pode ocorrer em caso de comprometimento renal severo, principalmente se a filtração estiver afetada, sendo outras possíveis causas a inflamação do peritônio, a septicemia e a administração de medicamentos nefrotóxicos (HOCHLEITHNER, 1994).

A produção da creatinina está relacionada com o rompimento da fosfocreatina no músculo esquelético para obtenção de energia (RAJMAN *et al.*, 2006), se tornando possível de ser analisada a fim de avaliar a ação de promotores de crescimento no metabolismo de aves.

## **2.6. Atividade antioxidante**

Os radicais livres são formados constantemente, seja no metabolismo celular normal ou em meio a eventos patológicos e, quando em excesso promovem a peroxidação dos lipídios de membrana e agressão às proteínas dos tecidos e das membranas, às enzimas, carboidratos e DNA, fazendo com que o organismo desenvolva um complexo sistema de proteção antioxidante (BARREIROS *et al.*, 2006).

Os radicais livres cujo elétron desemparelhado encontra-se centrado no átomo de oxigênio é denominado de espécies reativas de oxigênio (ERO). As principais espécies reativas de oxigênio são a hidroxila ( $\text{HO}\cdot$ ), superóxido ( $\text{O}_2\cdot^-$ ), peroxila ( $\text{ROO}\cdot$ ) e alcóxila ( $\text{RO}\cdot$ ), pertencentes ao grupo radicalares. Do grupo não radicalares fazem parte o oxigênio ( $\text{O}_2$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e ácido hipocloroso ( $\text{HClO}$ ) (BARREIROS *et al.*, 2006). A elevação das espécies reativas de oxigênio pode ser provocada por lesões teciduais causadas por traumas, infecções, parasitas, hipóxia e toxinas, que consequentemente, desencadeiam um conjunto de processos como o aumento de enzimas envolvidas na formação de radicais, a ativação da fagocitose, liberação de ferro e cobre ou uma interrupção da cadeia transportadora de elétrons (ROCK *et al.*, 1996).

O desequilíbrio entre o desafio oxidativo e a capacidade de defesa antioxidante do organismo é denominado de estresse oxidativo (MACHADO *et al.*, 2009). Enquanto que os dois principais meios de defesa antioxidantes no organismo podem ser subdivididos em: não enzimático e enzimático.

Os antioxidantes produzidos pelo corpo que agem enzimaticamente são formados pelas enzimas Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathione peroxidase (GPx) (BARBOSA *et al.*, 2010). Dentre os antioxidantes provenientes da dieta pode-se destacar o  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E),  $\beta$ -caroteno (pro-vitamina A), ácido ascórbico (vitamina C) e

compostos fenólicos como os flavonóides e poliflavonóides, principalmente (BARREIROS *et al.*, 2006), os quais estão presentes nos óleos essenciais.

A enzima SOD atua convertendo o superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio. A enzima catalase encontra-se em peroxissomos celulares, principalmente do fígado e rim, atua na decomposição de peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, proveniente da dismutação do ânion radical superóxido (WASSMANN *et al.*, 2004). A glutathione peroxidase juntamente com a catalase age na eliminação de hidroperóxidos e está relacionada em várias outras vias antioxidantes, incluindo sequestro de radicais livres (MARTINS, 2010).

Além das enzimas antioxidantes, o malondialdeído (MDA), um dos produtos finais da peroxidação lipídica, é um importante indicador de estresse oxidativo. É também conhecido como marcador de estresse oxidativo e status antioxidante (ZHENG *et al.*, 2012), pois devido à dificuldade em se mensurar os radicais livres pelo fato de obterem meia vida curta, se torna uma alternativa ao reagir com o ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) formando bases de Schiff, que são coloridas e permite o uso da espectrometria para determinar sua concentração (NETO *et al.*, 2012).

O conhecimento dos genes relacionados com a prevenção dos radicais livres é importante para produção animal, visto que, a geração de radicais livres e peroxidação lipídica podem acarretar o desenvolvimento de várias doenças, decréscimos na produção animal e qualidade do produto (SURAI, 2002).

## **2.7. Nutrição x genética**

A nutrigenômica vem ganhando cada vez mais importância no que diz respeito a nutrição animal, principalmente nos sistemas de produção intensivo, onde a alimentação, juntamente com outros fatores inerentes ao ambiente e métodos de manejo, contribui com uma parcela significativa para a melhoria do desempenho zootécnico; assim como na rentabilidade econômica das unidades de produção (GONÇALVES *et al.*, 2009). Segundo Gasparino *et al.* (2012) a alimentação e a eficiência reprodutiva estão associadas em função da genética do animal, o ambiente em que este está exposto e da interação entre esses dois fatores.

A nutrigenômica visa investigar como os nutrientes e os compostos bioativos dos alimentos influenciam a expressão de genes, em caso de variações no genoma, como o indivíduo responderá a dieta, denominando assim, como o conceito da nutrigenética

(MULLER & KERSTEN, 2003; DUCLOS, 2007). Embora a nutrigenômica tenha ganhado atenção nos últimos anos, existe comprovação de que componentes dos alimentos afetam a expressão de determinados genes (BERGMANN *et al.*, 2006).

É fundamental conhecer os genes que são sensíveis a alterações na dieta, pois muitos estão envolvidos em processos fisiológicos indispensáveis a homeostase do indivíduo; sendo a nutrigenômica uma ferramenta essencial para estabelecer estratégias que possam trazer melhorias significativas na saúde e na produtividade animal (BONAPARTE *et al.*, 2014).

O conhecimento acerca da sequência de informações do genoma permitiu buscas relacionadas com os processos fisiológicos da digestão para muitos animais de produção, em nível de transcrição gênica (ARAÚJO, 2015). O conhecimento de genes que estão relacionados com desenvolvimento e diferenciação do trato gastrointestinal, até mesmo com condições que possam alterar o processo de digestão podem disponibilizar informações sobre os mecanismos que venham melhorar a absorção de nutrientes e a eficiência da produção (CONNOR *et al.*, 2009).

Em pesquisa desenvolvida por Silva *et al.* (2013), observou-se que a inclusão de 12% de glicerol na alimentação de codornas reduziu a expressão de genes relacionados ao estresse. De acordo com Araújo (2015), a inclusão de 4% de óleo de algodão com sulfato ferroso na dieta de frangos de cortes aos 21 dias de idade, influenciou a expressão do gene antioxidante GPx (Glutathione peroxidase) no intestino; enquanto que 6% de óleo de algodão sem sulfato ferroso alterou a expressão do MDA (Malondialdeído) aos 42 dias de idade.

Entretanto, estudos com uso da nutrição, especialmente alimentos alternativos e que avaliem sua interação com a expressão gênica ainda são escassos em animais não ruminantes. Porém, é indiscutível seu potencial à medida que se conhece os efeitos da nutrição, da genética e do ambiente sobre o desempenho produtivo e reprodutivo dos animais (BONAPARTE *et al.*, 2014; SOUSA *et al.*, 2014).

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINI, P.S.; SOLÀ-ORIOL, D.; NOFRARIAS, M.; BARROETA, A.C.; GASA, J.; MANZANILLA, E.G. Role of in-feed clove supplementation on growth performance, intestinal microbiology, and morphology in broiler chicken. **Livestock Science**, v.147, p.113-118, 2012.

ALBUQUERQUE, C. C.; CAMARA, T. R.; MARIANO, R. L. R.; WILLADINO, L.; JÚNIOR, C. M.; ULISSES, C. Antimicrobial action of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. V. 49, n. 4, p. 527-535, 2006.

ANDREATTI-FILHO, R. L. **Saúde aviária e doenças**. Ed. Rocca Ltda, São Paulo, cap. 9, p. 112- 117, 2007.

ARAÚJO, R. S. **Expressão gênica em frangos de corte submetidos a diferentes níveis de alimentos alternativos**. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal do Piauí, 82p, 2015.

BARBOSA, A. A.; MÜLLE, E. S.; MORAES, G. H. K.; UMIGI, R. T.; BARRETO, S. L. T.; FERREIRA, R. M. Perfil da aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase e biometria do fígado de codornas japonesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.2, p.308-312, 2010.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre gerações de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BARRETO, M. S. R. **Uso de extratos vegetais como promotores do crescimento em frangos de corte**. Dissertação (Mestrado)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo. 51 p, 2007.

BASMACIOĞLU MALAYOĞLU, H.; BAYSAL, Ş.; MISIRLIOĞLU, Z.; POLAT, M.; YILMAZ, H.; TURAN, N. Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on wheat–soybean meal diets. **British Poultry Science**, v. 51, n. 1, p. 67-80, 2010.

BERGMANN, M. M.; BODZIOCH, M.; BONET, M. L. Defoort C, Lietz G, Mathers JC. Bioethics in human nutrigenomics research: European Nutrigenomics Organisation workshop report. **British Journal of Nutrition**, 95, 1024-1027, 2006.

BITU, V.; BOTELHO, M. A.; COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; VERAS, H. N. H.; MARTINS, K. T.; LYRA, A.; COLUCHI, G. G.; RUELA, R. S.; QUEIROZ, D. B.; SIQUEIRA, J. S.; QUINTANS-JUNIOR, L. J. Phytochemical screening and antimicrobial activity of essential oil from *Lippia gracillis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 22, n.1, p. 69-75, 2012.

BONA, T.; PICKLER, L.; MIGLINO, L. B.; KURITZA, L. N.; VASCONCELOS, S. P., SANTIN, E. Óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de *Salmonella*, *Eimeria* e *Clostridium* em frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, 411-418, 2012.

BONAPARTE, T.; VARGAS JUNIOR, J. G.; BIZARRIA, D. G.; BARATA, A. L.; NASCIMENTO, H. S.; SILVA, B. M. F.; CARVALHO, R. B.; MESQUITA, C. B.; OLIVEIRA, L. R. S.; SOARES, R. T. R. N. Princípios da nutrigenômica e seu emprego na nutrição animal do futuro. IN: DEMINICIS, B.B & MARTINS, C.B. **Tópicos especiais em Ciência Animal III**. Cap. 19, p. 201 – 212, 2014.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Produção da Pecuária Municipal. Rio de Janeiro, v.38, p. 1-65, 2010.

BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. **Animal feed science and technology**, Amsterdam, v. 158, n. 1, p. 1-14, 2010.

BRUMANO, G.; GOMES, P. C.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; GENEROSO, R. A. R.; SCHMIDT, M. Composição química e valores de energia metabolizável de alimentos protéicos determinados com frangos de corte em diferentes idades. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.6, p.2297-2302, 2006.

BUDKA, D. Foodborne pathogen, *Bacillus cereus*: growth in rice-based foods and inhibitory effects of *Ocimum basilicum*, *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* and their essential oils, 2007.



CALLAWAY, T.; EDRINGTON, T. S.; ANDERSON, R. C.; HARVEY, R. B.; GENOVESE, K. J.; KENNEDY, C. N.; VENN, D. W.; NISBET, D. J. Probiotics, prebiotics and competitive exclusion for prophylaxis against bacterial disease. **Animal Health Research Reviews**, v. 9, n. 2, p. 217-225, 2008.

CAMPBELL, T.W. Hematologia e bioquímica de aves. In: THRALL, M.A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Rocca. p.215-246;448-460, 2006.

CAPITELLI, R.; CROSTA, L. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, Texas, v. 16, n. 1, p. 71–120, 2013.

CARDOSO, V. S.; LIMA, C.A.R.; LIMA, M.E.F.; DORNELES, L.E.G.; DANELLI, M.G.M. Piperine as a phytogenic additive in broiler diets. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, p.489-496, 2012.

CEPEDA, M. B.; CEPEDA, P. B.; BAÊTA, B. A.; GAUDÊNCIO, F. N.; CORDEIRO, M. D.; MAGALHÃES-MATOS, P. C.; BRITO, M. F.; FONSECA, A. H. Alterações bioquímicas, anatômicas e histopatológicas em fígado de *Gallus gallus* Linnaeus, 1758 experimentalmente infectados por *Borrelia anserina* Sakharoff, 1891. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 36(8):687-693, 2016.

CLEFF, M.B.; MEINERZ, A.R.M.; MADRID, I.; FONSECA, A.O.; ALVES, G.H.; MEIRELES, M.C.A.; RODRIGUES, M.R.A. Perfil de suscetibilidade de leveduras do gênero *Candida* isoladas de animais ao óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, n.1, p.43-49, 2012.

CONNOR, E.; LI, R. W.; BALDWIN, R. L; LI, C. Gene expression in the digestive tissues of ruminants and their relationships with feeding and digestive processes. **The Animal Consortium**. v.10, 2009.

COSTA, L.B.; TSE, M.L.P.; MIYADA, V.S. Extratos vegetais como alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento para leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 3, p. 589-595, 2007.

CRISTANI, M.; D'ARRIGO, M.; MANDALARI, G.; CASTELLI, F.; SARPIETRO, M.G.; MICIELI, D.; VENUTI, V.; BISIGNANO, G.; SAIJA, A.; TROMBETTA, D. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 6300-6308, 2007.

DIAS, G. E. A. **Óleo Essencial de Orégano (*Origanum vulgare* L.) como Aditivo Zootécnico na Ração de Frangos de Corte**. Dissertação (Mestrado)- Universidade Rural do Rio de Janeiro, 80p, 2011.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**. v. 88, p. 308-316, 2000.

DUCLOS, M. J. Which perspectives for nutrigenomics in chicken? In: EUROPEAN SYMPOSIUM ON POULTRY NUTRITION. **Proceedings**. p.16, 2007.

EDENS, F.W. An alternative for antibiotic se in poultry: probiotics. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.5, n.2, p.75-97, 2003.

EVANS, G. O. **Animal Clinical Chemistry**. London: Taylor & Francis, 222p, 1996.

FERNANDES, B. C. S. **Integridade intestinal e desempenho de frangos de corte suplementados com probióticos, prebióticos e ácidos orgânicos**. Dissertação (Mestrado) Universidade estadual paulista, 58 p., 2012.

FERNANDES, R. T. V; ARRUDA, A. M. V.; OLIVEIRA, V. R. M.; QUEIROZ, J. P. A. F.; MELO, A. S.; DIAS, F. K. D.; MARINHO, J. B. M.; SOUZA, R. F.; SOUZA, A. O. V.; FILHO, C. A. S. Aditivos fitogênicos na alimentação de frangos de corte: óleos essenciais e especiarias. **PubVet**, Maringá, v. 9, n. 12, p. 526-535, 2015.

FERRO, M. M.; MOURA, D. C.; GERON, L. J. V. Óleos essenciais em dietas para bovinos. **Revista de Ciências Agroambientais**, v.14, n.2, 2016.

FIGUEIRA, S. V.; MOTA, B. P.; LEONÍDIO, A. R. A.; NASCIMENTO, G. M.; ANDRADE, M. A. Microbiota intestinal das aves de produção. **Enciclopédia biosfera**, v.10, n.18, p. 2181-2208, 2014.

FLEMMING, J.S.; FREITAS, R.J.S. Avaliação do efeito de prebióticos (MOS), probióticos (*Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*) e promotor de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 2, p. 41-47, 2005.

GARCÍA-GARCÍA, R.; LÓPEZ-MALO, A.; PALOU, E. Bactericidal action of binary and ternary mixtures of carvacrol, thymol, and eugenol against *Listeria innocua*. **Journal Food Science**, v. 76, p. 95-100, 2011.

GASPARINO, E.; GUIMARÃES, S. E.; NETO, A. R.; MARTINS, E. N.; LOPES, P. S.; BATISTA, E.; VESCO, A. P. Effect of glycerol on mRNA expression of growth hormone, insulin-like growth factor, and mitochondrial breast muscle genes of Japanese quails. **British Poultry Science**, v.53, p.497-507, 2012.

GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Eclética Química**, V. 36, N. 1, 2011.

GONÇALVES, F.M.; CORRÊA, M. N.; ANCIUTI, M. A.; GENTILINI, F. P.; ZANUSSO, J. T., RUTZ, F. Nutrigenômica: situações e perspectivas na alimentação animal. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.104, p.569-572, 2009.

GUIDOTTI, M. **Aditivos fitogênicos na alimentação de aves de produção** (Revisão de literatura). Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, 2011.

GUIMARÃES, A. G.; OLIVEIRA, G. F.; MELO, M. S.; CAVALCANTI, S. C. H.; ANTONIOLLI, A. R.; BONJARDIM, L. R.; SILVA, F. A.; SANTOS, J. P. A.; ROCHA, R. F.; MOREIRA, J. C. F.; ARAÚJO, A. A.S.; GELAIN, D. P.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Bioassay-guided Evaluation of Antioxidant and AntinociceptiveActivities of Carvacrol, **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 107, 949–957, 2010.

HAMMER K.A.; HEEL K.A. Use of multiparameter flow cytometry to determine the effects of monoterpenoids and phenylpropanoids on membrane polarity and permeability in *Staphylococci* and *Enterococci*. **International Journal of Antimicrobial Agents** , v. 40, p. 239-45, 2012.

HARR, K. E. Clinical chemistry of companion avian species: a review. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 31, n. 3, p. 140–151, 2002.

HENTZ, S.M.; SANTIM, N.C. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) contra *Salmonella* sp. **Evidência**, v.7, n.02, p.93- 100, 2007.

HERNÁNDEZ, F.; MADRID, J.; ORENGO, V. G. J.; MEGÍAS, M. D. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility and digestive organ size. **Poultry Science**. v. 83, p. 169–174, 2004.

HOCHLEITHNER, M. Biochemistries In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON L. R. **Avian medicine: principles and application**. Lake Worth: Wingers Publishing, p. 176-198, 1994.

HOLLAND, R.D.; WILKES, J.G.; COOPER, W.M.; ALUSTA, P.; WILLIAMS, A.; PEARCE, B.; BEAUDOIN, M.; BUZATU, D. Thymol treatment of bacteria prior to matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometric analysis aids in identifying certain bacteria at the subspecies level. *Rapid Commun. Mass Spectrom*, v. 28, p. 2617– 2626, 2014.

HONG, J. C.; STEINER, T.; AUFY, A.; LIEN, T. F. Effects of supplemental essential oil on growth performance, lipid metabolites and immunity, intestinal characteristics, microbiota and carcass traits in broilers. **Livestock Science**, v.144, p.253-262, 2012.

HUMPHREY, B.; KLASING, K. Modulation of nutrient metabolism and homeostasis by the immune system. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, n. 1, p. 90-100, 2004.

HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; IMMERSEEL, F. V. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. **The Veterinary Journal**, v. 187, n. 2, p. 182-188, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, **Produção da Pecuária Municipal**, Rio de Janeiro, v.44, p. 29-31, 2016.

ITO, N.M.K.; MIYAJI, C.I.; LIMA, E.A.; OKABAYSHI, S. **Saúde gastrointestinal, manejo e medidas para controlar as enfermidades gastrointestinais**. In: MENDES, A.A.; NAAS, I.A.; MACARI, M. *Produção de frangos de corte*. Campinas: FACTA, Cap. 13, p.205- 251, 2004.

JAENSCH, S. Diagnosis of avian hepatic disease. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 9, n. 3, p. 126-135, 2000.

JAMROZ, D.; WERTELECKI, T.; HOUSZKA, M.; KAMEL, C. Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejunum walls in chicken. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v. 90, p. 255-268, 2006.

JANG, I.S.; KO, Y.H.; KANG, S.Y.; LEE, C.Y. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 134, n. 3, p. 304-315, 2007.

JORDÃO FILHO, J. **Estimativas das exigências de proteína e de energia para manutenção, ganho e produção de ovos em codornas**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal da Paraíba – Centro de Ciências Agrárias, Areia, 150p, 2008.

KANEKO, J. J; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6 ed. Waltham: Academic Press, 928 p, 2008.

KOIYAMA, N. T. G. **Aditivos fitogênicos na produção de frangos de corte**. Animal Science. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 74p, 2012.

KOIYAMA, N. T. G.; ROSA, A. P.; PADILHA, M. T. S.; BOEMO, L. S.; SCHER, A.; MELO, A. M. S.; FERNANDES, M. O. Desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com mistura de aditivos fitogênicos na dieta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, n.3, p.225-231, 2014.

LA STORIA, A.; ERCOLINI, D.; MARINELLO, F.; DI PASQUA, R.; VILLANI, F.; MAURIELLO, F. Atomic force microscopy analysis shows surface structure changes in carvacrol-treated bacterial cells. **Research in Microbiology** , v. 162, p. 164-172, 2011.

LEAHY, S.C.; HIGGINS, D.G.; FITZGERALD, G.F.; VAN SIDEREN, D. Getting better with bifidobacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, p.1303-1315, 2005.

LEITE, P. R. S. C.; MENDES, F. R.; PEREIRA, M. L. R.; LIMA, H. J. A.; LACERDA, M. J. R. Aditivos fitogênicos em rações de frangos. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, n.15, p.9- 26, 2012.

LEVINSON, W. **Microbiologia médica e imunologia**. 13 ed. Porto Alegre: Editora AMGH LTDA, 2016.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G. Família Lamiaceae: Importantes Óleos Essenciais com Ação Biológica e Antioxidante. **Revista Fitos**, v.3, n. 03, 2007.

LOIZZO, M.R.; MENICHINI, F.; CONFORTI, F.; TUNDIS, R.; BONESI, M.; SAAB, A.M.; STATTI, G.A.; CINDIO, B.; HOUGHTON, P.J.; MENICHINI, F.; FREGA, N.G. Chemical analysis, antioxidant, antiinflammatory and anticholinesterase activities of *Origanum ehrenbergii* Boiss and *Origanum syriacum* L. essential oils. **Food Chemistry**, v.117, p. 174-180, 2009.

LU, J.; IDRIS, U.; HARMON, B.; HOFACRE, C.; MAURER, J.J.; LEE, M.D. Diversity and sucession of the intestinal bactéria community of the maturing broiler chicken. **Applied Environment Microbiology**, v. 69, p. 6816-6824, 2003.

LUNA, A.; LABAQUE, M.C.; ZYGADLO, J.A.; MARIN, R.H. Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat. **Poultry Science**, v. 89, p. 366-370, 2010.

MACARI, M.; FURLAN, R.L. Probióticos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos. **Anais...** Campinas: Facta, p.53-71, 2005.

MACHADO, L. P.; KOHAYAGAWA, A.; SAITO, M. E.; SILVEIRA, V.F.; YONEZAWA, L. A. Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse em Medicina Veterinária. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 8, n. 1, p. 84-94, 2009.

MARTINS, C.A. **Avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo do guaraná (Paullinia cupana) em pó**. Dissertação (Mestrado em Nutrição em Saúde Pública). Programa de Pós-Graduação em Nutrição em Saúde Pública. Universidade de São Paulo. Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, 115p, 2010.

MAY, A.; SUGUINO, E.; MARTINS, A. N.; BARATA, L. E. S.; PINHEIRO, M. Q. Produção de biomassa e óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em função da altura e intervalo entre cortes. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, São Paulo, v.12, n.2, p.195-200, 2010.

MICHELIS, J.; MISSOTTEN, J.; FREMAUT, D.; DE SMET, S.; DIERICK, N. In vitro dose-response of carvacrol, thymol, eugenol and trans-cinnamaldehyde and interaction of combinations for the antimicrobial activity against the pig gut flora. **Livestock Science**, v. 9, p. 157–160, 2007.

MOTTA, V.T. **Bioquímica clínica para o laboratório**. 4.ed. Porto Alegre: Médica Missau, 419p, 2003.

MULLER, M.; KERSTEN, S. Nutrigenomics: goals and strategies. **Nature Review Genetics**, v.4, p.315-322, 2003.

MURAKAMI, A.E; FURLAN, A.C. Pesquisas na Nutrição e Alimentação de Codornas em Postura no Brasil. In: I Simpósio Internacional e I Congresso Brasileiro de Coturnicultura, **Anais...** UFLA/MG, 2002.

MURAROLLI, V.D.A. **Efeito de prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 101p., 2008.

NASCIMENTO, J. M. L.; CAVALCANTE, M. B.; AMARANTE, J. F.; KREWER, C. C.; COSTA, M. M. Ação antimicrobiana de óleo essencial frente a cepas bacterianas contaminantes de alimentos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, n.3, p.221-225, 2014.

NASCIMENTO, P. F. C.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, Â. R.; SANTOS, P. O.; JÚNIOR, A. M. B.; TRINDADE, R. C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 17(1): 108-113, 2007.

NETO, A., FERREIRA, J. M., DONADON, C. C., RIVERA, R. J. B., E CALVI, R. G. Correlação entre peroxidação lipídica e níveis de creatina quinase plasmática em jogadores de tênis de campo juvenis durante um período competitivo. **Brazilian Journal of Biomotricity**, v.6, n. 1, 2012.

NÉVOA, M. L.; CARAMORI- JÚNIOR, J. G.; VIEITES, F. M.; NUNES, V. R.; VARGAS JUNIOR, J. G.; KAMIMURA, R. Antimicrobianos e prebióticos nas dietas de animais não ruminantes. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 12, n. 2, p.85-95, 2013.

NOSTRO, A.; PAPALIA, T.; Antimicrobial Activity of Carvacrol: Current Progress and Future Prospectives. Recent Pat. Antiinfect. **Drug Discovery**, n.7, p. 28-35, 2012.

OETTING, L. L.; UTIYAMA, C. E.; GIANI, P. A.; RUIZ, U. S.; MIYADA, V. S. Efeitos de extratos vegetais e antimicrobianos sobre a digestibilidade aparente, o desempenho, a morfometria dos órgãos e a histologia intestinal de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 1389-1397, 2006.

OVIEDO-RONDÓN, E. O. Molecular methods to evaluate effects of feed additives and nutrients in poultry gut microflora. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 209-225, 2009.

OVIEDO-RONDÓN, E.O.; HUME, M.E.; HERNÁNDEZ, C.; CLEMENTE-HERNÁNDEZ, S. Intestinal microbial ecology of broilers vaccinated and challenged with mixed *Eimeria* species and supplemented with essential oil blends. **Poultry Science**, v.85, p.854-860, 2006.

PASTORE, S. M.; OLIVEIRA, W. P.; MUNIZ, J. C. L. Panorama da coturnicultura no Brasil. **Revista eletrônica nutritime**, v. 9, n. 6, p. 2041 – 2049, 2012.

PEREIRA, C.A.M.; MAIA, J.F. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.). **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 624-632, 2007.

PINTO, R.; FERREIRA, A. S.; ALBINO, L. F. T.; GOMES, P. C.; VARGAS, J. G. J. Níveis De Proteína e Energia para Codornas Japonesas em Postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 4, p.1761-1770, 2002.

RACANICCI, A.M.C.; DANIELSEN, B.; MENTEN, J.F.M. et al. Antioxidant effect of dittany (*Origanum dictamnus*) in precooked chicken meat balls during chill-storage in comparison to rosemary (*Rosmarinus officinalis*). **European Food Research Technology**, v.218, p.521-524, 2004.

RACANICCI, A.M.C.; DANIELSEN, B.; SKIBSTED, L.H. Mate (*Ilex paraguariensis*) as a source of water extractable antioxidant for use in chicken meat. **European Food Research Technology**, Berlin, v. 227, p.255-260, 2008.



RAJMAN, M.; JURÁNI, M.; LAMOSOVA, D.; MACAJOVA, M.; SEDLACKOVA, M.; KOSTAL, L.; JEZOVA, D.; VYBOH, P. The effects of feed restriction on plasma biochemistry in growing meat type chickens (*Gallus gallus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A, n. 145, p. 363-371, 2006.

REIS, L. F. S. D. Codornizes, Criação e Exploração. Lisboa: **Agros**, v. 10, p.222, 1980.

RIZZO, P. V. **Misturas de extratos vegetais como alternativas ao uso de antibióticos melhoradores do desempenho nas dietas de frangos de corte**. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo. 69 p., 2008.

ROCK, C. L.; JACOB, R. A.; BOWEN, P. E. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 96, p. 693-702, 1996.

SAKAMOTO, M.I; MURAKAMI, A.E.; SOUZA, L.M.G.; FRANCO, J.R.G.; BRUNO, L.D.G.; FURLAN, A.C. Valor energético de alguns alimentos alternativos para codornas japonesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.818-821, 2006.

SANTOS, B.M.; PINTO, A.S; FARIA, J. E. **Terapêutica e desinfecção em avicultura**. 3 ed. Viçosa: UFV, 87p, 2008.

SANTOS, F. R.; OLIVEIRA, P. R.; MINAFRA, C. S.; DUARTE, E. F.; ALMEIDA, R. R.; SILVA, W. J. Desenvolvimento digestivo e aproveitamento energético em frangos de corte. **Pubvet**, Londrina, V. 6, N. 18, Ed. 205, Art. 1373, 2012.

SANTURIO, J.M.; SANTURIO, D.F.; POZZATTI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P. R.; ALVES, S. H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, p.803-808, 2007.

SCHMIDT, E. M. S.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; SANTIN, E.; PAULILLO, A.C. Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade Avícola – Revisão. **Archives of Veterinary Science**, v 12, n.3. p.9-20, 2007.

SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P; SILVA, E.L. Exigências Nutricionais de Codornas. In: III Simpósio Internacional e II Congresso Brasileiro de Coturnicultura, **Anais...**Lavras: UFLA. p.44-64, 2007.

SILVA, J.H.V.; JORDÃO FILHO, J.; COSTA, F.G.P.; LACERDA, P. B.; VARGAS, D. G. V.; LIMA, M. R. Exigências nutricionais de codornas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.13, n.3, p.775-790, 2012.

SILVA, M. A.; PESSOTTI, B. M. S.; ZANINI, S. F.; COLNAGO, G. L.; RODRIGUES, M. R. A.; NUNES, L. C.; ZANINI, M. S.; MARTINS, I. V. F. Intestinal mucosa structure of broiler chickens infected experimentally with *Eimeria tenella* and treated with essential oil of oregano. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, 1471-1477, 2009.

SILVA, S.S.; GASPARINO, E.; VOLTOLINI, D. M.; MARCATO, S. M.; TANAMAT, F. Expressão do mRNA de genes mitocondriais e desempenho produtivo de codornas alimentadas com glicerol. **Pesquisa agropecuária brasileira**. v.48, n.2, p.228-233, 2013.

SINGH, P.; SHUKLA, R.; PRAKASH, B.; KUMAR, A.; SINGH, S.; MISHRA, P. K.; DUBEY, N. K. Chemical profile, antifungal, antiaflatoxic and antioxidant activity of *Citrus máxima* Burm. and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, dlimonene. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 1734-1740, 2010.

SOARES, K. A.; RESENDE, A.; SILVA-JÚNIOR, W.; PANDOLFO, C. Avaliação da atividade antimicrobiana de extrato de alecrim-do-campo (*Baccharis Dracunculifolia*) sobre bactérias gram negativas e gram positivas. **Ensaio e ciência: Ciências biológicas, agrárias e da saúde**, v.17, n.14, p.17-28, 2013.

SOUSA, M. S.; TINÔCO, I. F. F.; BARRETO, S. L. T.; AMARAL, A. G.; PIRES, L. C.; FERREIRA, A. S. Determinação de limites superiores da zona de conforto térmico para codornas de corte aclimatizadas no Brasil de 22 a 35 dias de idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.15, n.2, p.350-360, 2014.

SURAI, P. F. **Natural antioxidants in Avian nutrition and reproduction**. Nottingham University Press, Nottingham. p.234, 2002.

SUZUKI, O. H.; FLEMMING, J. S.; SILVA, M. E. T. Uso de óleos essenciais® na alimentação de leitões. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 6, n. 4, p. 519-526, 2008.

TEIRLYNCK, E.; BJERRUM, L.; EECKHAUT, V.; HUYGEBART, G.; PASMANS, F.; HAESBROUCK, F.; DEWULF, J.; DUCATELLE, R.; IMMERSEEL, V. The cereal type in feed influences gut wall morphology and intestinal immune cell infiltration in broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v. 102, n. 10, p. 1453-1461, 2009.

TEIXEIRA, B., MARQUES, A., RAMOS, C., NENG, N. R., NOGUEIRA, J. M. F., SARAIVA, J. A.; NUNES, M. L. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**, v.43, 587-595, 2013.

THRALL M. A.; BAKER, D. C.; CAMPBELL, T. W. et al. **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Lippincott: Williams & Wilkins, 618p, 2004.

TOLEDO, G. S. P.; COSTA, P. T. C.; SILVA, L. P.; PINTO, D.; FERREIRA, P.; POLETTO, C. J. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo antibiótico e/ou fitoterápico como promotores, adicionados isoladamente ou associados. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.6, p.1760-1764, 2007.

TRAESEL, C. K.; LOPES, S.T. A. WOLKMER, P.; SCHMIDT, C.; SANTURIO, J. M.; ALVES, S. H. Óleos essenciais como substituintes de antibióticos promotores de crescimento em frangos de corte: perfil de soroproteínas e peroxidação lipídica. **Ciência Rural**, v.41, n.2, p.278-284, 2011a.

TRAESEL, C. K.; WOLKMER, P.; SCHMIDT, C.; SILVA, C. B.; PAIM, F. C.; ROSA, A. P.; ALVES, S. H.; SANTURIO, J. M.; LOPES, S. T. A. Serum biochemical profile and performance of broiler chickens fed diets containing essential oils and pepper. **Comparative Clinical Pathology**, 20(5):453-460, 2011b.

VALERO, M. V., PRADO, R. M., ZAWADSKI, F., EIRAS, C. E., MADRONA, G. S. & PRADO, I. N. Propolis and essential oils additives in the diets improved animal performance and feed efficiency of bulls finished in feedlot. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 32, p. 419-426, 2014.

VASCONCELOS, F. C.; BASTOS-LEITE, S. C.; GOMES, T. C. L.; GOULART, C. C.; SOUSA, A. M.; FONTENELE, G. S. P. Ácidos orgânicos, óleos essenciais e simbiótico na dieta de poedeiras semipesadas: desempenho produtivo e análise econômica. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.10, n.3, p.194-200, 2016.

WASSMANN, S.; WASSMANN, K.; NICKENIG, G. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. **Hypertension**, v.44, p.381-386, 2004.

WILLING, B.; VAN KESSEL, A. Intestinal microbiota differentially affect brush border enzyme activity and gene expression in the neonatal gnotobiotic pig. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 93, n. 5, p. 586-595, 2009.

XU, J.; ZHOU, F.; JI, B.P.; PEI, R.S.; XU, N. The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against Escherichia coli. **Letters in Applied Microbiology**, 47, 174–179, 2008.

ZANINI, S. F.; SILVA, M. A.; PESSOTTI, B. M. S. S.; COLNAGO, G. L.; NUNES, L. C.; RODRIGUES, M. R. A.; Suplementação de vitamina e e/ou de óleo essencial de aroeira na dieta de frangos de corte sobre o desempenho e morfometria intestinal. **Archives of Veterinary Science**, v.16, n.2, p.76-81, 2011.

ZHANG, K.Y.; YAN, F.; KEEN, C.A.; WALDROUP, P.W. Evaluation of microencapsulated essential oils and organic acids in diets for broiler chickens. **International Journal of Poultry Science**, Faisalabad, v.4, n.9, p. 612-619, 2005.

ZHENG, Q.; WEN, X.; HAN, C.; LI, H.; XIE, X. Effect of replacing soybean meal with cottonseed meal on growth, hematology, antioxidant enzymes activity and expression for juvenile Grass carp, *Ctenopharyngodonidellus*. **Fish Physiology Biochemist**, v.38, p.1059-1069, 2012.

## **CAPÍTULO 1**

### **ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM (*LIPPIA GRACILIS SHAUER*) COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO PARA CODORNAS JAPONESAS EM CRESCIMENTO**

ROCHA, Grazielle Ferreira. **Óleo essencial de alecrim (*Lippia gracilis shauer*) como promotor de crescimento para codornas japonesas em crescimento.** Sergipe: UFS, 2018. 29p. (Dissertação - Mestrado em Zootecnia)

**Resumo:** Objetivou-se avaliar a ação e os efeitos do óleo essencial de alecrim da chapada (*Lippia gracilllis shauer*) como promotor de crescimento na dieta de codornas japonesas através da análise do desempenho produtivo, da microbiologia intestinal, dos parâmetros bioquímicos sanguíneos, da peroxidação lipídica no fígado e da expressão de genes no intestino. Foram utilizadas 252 codornas *coturnix coturnix japônica* com dois dias de idade, distribuídas dentro de três tratamentos, sete repetições e 12 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram uma dieta basal; dieta basal + 400mg/kg de ração de óleo essencial de alecrim (*Lippia Gracilllis shauer*) e dieta basal + 500mg/kg de ração de um antimicrobiano químico (Bacitracina Metileno Disalicilato). O período experimental foi de 34 dias. Não houve efeito significativo ( $P>0,05$ ) dos tratamentos sobre o peso aos 35 dias e nem sobre o ganho de peso das aves. Entretanto, o consumo de ração ( $P<0,01$ ) foi maior no tratamento contendo o antimicrobiano convencional e a conversão alimentar ( $P<0,01$ ) melhor nos animais que consumiram o óleo essencial de alecrim. O crescimento da *Escherichia coli* foi restringido nos animais que consumiram os promotores de crescimento. O crescimento de *Salmonella ssp.* foi controlado no tratamento contendo o antimicrobiano convencional. No entanto, este não inibiu o crescimento da bactéria *Staphylococcus ssp.* O óleo essencial de alecrim favoreceu o crescimento de *Lactobacillus ssp.* Observou-se que não houve diferença entre tratamentos ( $P>0,05$ ) para a concentração das enzimas AST e ALT no sangue e quanto à peroxidação lipídica no fígado das codornas. Houve redução da concentração de ácido úrico ( $P<0,01$ ) e de creatinina ( $P=0,02$ ) nos animais que consumiram o antimicrobiano convencional. As aves do tratamento controle apresentaram maior expressão do cotransportador sódio-glicose (*SGLT1*) e as do tratamento com adição de óleo essencial promoveram menor expressão de catalase (*CAT*) e glutathiona peroxidase (*GPX7*) em relação ao tratamento com antimicrobiano convencional e controle, respectivamente. O óleo essencial de alecrim é um potencial melhorador de desempenho de codornas japonesas devido a sua capacidade de melhorar o ambiente intestinal, equilibrando a população microbiana e por reduzir o gasto energético empregado em processos oxidativos.

**Palavras-chave:** desempenho, expressão gênica, microbiologia, óleo essencial, perfil bioquímico

ROCHA, Grazielle Ferreira. **Óleo essencial de alecrim (*Lippia gracilis shauer*) como promotor de crescimento para codornas japonesas em crescimento.** Sergipe: UFS, 2018. 29p. (Dissertação - Mestrado em Zootecnia)

**Abstract:** Objected evaluate the action and effects of rosemary essential oil (*Lippia gracillis shauer*) in the diet of Japanese quail through the analyze of productive performance, intestinal microbiology, blood biochemical parameters, lipid peroxidation in the liver and expression of genes in the intestine. Two hundred fifty-two quail coturnix coturnix quail, with two days old, were distributed in three treatments, seven replicates and 12 birds per experimental unit. The treatments were a basal diet; basal diet + 400 mg/kg of rosemary essential oil (*Lippia gracillis shauer*) diet and basal diet + 500 mg/kg of diet of a chemical antimicrobial (Bacitracin Methylene Disalicylate). The experimental period was 34 days. There was no effect ( $P>0.05$ ) of the treatments on the weight at 35 days and nor on weight gain of birds. However, feed intake was higher ( $P<0.01$ ) in the treatment containing the conventional antimicrobial and feed conversion best ( $P<0.01$ ) in the animals that consumed rosemary essential oil. Growth of *Escherichia coli* was restricted in the quails that consumed the growth promoters. The growth of *Salmonella ssp.* was controlled in the treatment containing the conventional antimicrobial. However, this did not inhibit potential the growth of the bacterium *Staphylococcus ssp.* The essential oil of rosemary favored the growth of *Lactobacillus ssp.* It was observed that there was no difference between treatments ( $P>0.05$ ) for the concentration of AST and ALT enzymes in blood and for lipid peroxidation in the liver of quails. There was reduction in the concentration of uric acid ( $P<0.01$ ) and creatinine ( $P=0.02$ ) in the birds that consumed the conventional antimicrobial. Control birds presented higher expression of SGLT1 and those of the treatment with addition of essential oil promoted lower CAT and GPX7 expression in relation to conventional and control antimicrobial treatment, respectively. Rosemary essential oil is a potential performance enhancement of Japanese quail due to its ability to improve the intestinal environment by balancing the microbial population and by reducing the energy expenditure used in oxidative processes.

**Keywords:** biochemical profile, essential oil, gene expression, microbiology, performance.

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização de antibióticos como melhoradores de desempenho na alimentação animal está decrescendo mundialmente (MEZALIRA et al., 2014). A União Europeia, desde 2006 banuiu o uso de antimicrobianos como melhoradores de desempenho dentro da produção animal, assim como também restringiu a importação de produtos que contenham resíduos de antimicrobianos (BRENES & ROURA, 2010), o que tem estimulado as buscas por alternativas que promovam o crescimento dos animais sem afetar a qualidade do produto final (SANTURIO et al., 2007).

Dentre os novos aditivos disponíveis no mercado que vêm despertando a atenção da comunidade científica e que podem substituir os antimicrobianos melhoradores de desempenho na produção animal, estão os óleos essenciais (KOIYAMA, 2012), já regulamentados como seguros pela agência americana Food and Drug Administration (FDA) que prescreve remédios e alimentos (SUZUKI et al., 2008) e, portanto, podem ser usados em produtos alimentícios, assim como na produção animal.

Estudos demonstram que os óleos essenciais têm ação antibacteriana, através do controle de patógenos, atividade antioxidante por meio do controle de radicais livres, e atuação sobre a digestibilidade e absorção de nutrientes por meio do estímulo da atividade enzimática, além de outros efeitos positivos relacionados às alterações na histologia do epitélio intestinal (OETTING *et al.*, 2006; CHILANTE *et al.*, 2012; KOIYAMA, 2012).

Os óleos essenciais são constituídos de hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, ácidos orgânicos, etc. (BONA et al., 2012), sendo os compostos fenólicos, flavonóides e terpenóides os que apresentam maior capacidade antioxidante (TRAESSEL *et al.*, 2011a). Os antioxidantes têm como objetivo diminuir ou até mesmo inibir os efeitos provocados pelos radicais livres e compostos oxidantes (MORAIS *et al.*, 2009). Os radicais peróxidos são produzidos inicialmente no processo de oxidação lipídica e os fenóis atuam como doadores de hidrogênio para estes e, dessa forma, dificultam a formação de hidroperóxidos (BRENES & ROURA, 2010).

O óleo essencial de alecrim (*Lippia gracillis shauer*) tem como componentes majoritários o carvacrol e timol (SANTOS et al., 2014), que agem provocando alterações na permeabilidade e atividade da membrana celular das bactérias patogênicas, com mudanças na atividade dos canais de cálcio, perturbação do equilíbrio iônico e perda de ions K<sup>+</sup> (SUZUKI *et al.*, 2008). Assim como também podem atuar contra processos oxidativos no organismo das aves.



Considerando o óleo essencial de alecrim (*Lippia gracillis shauer*) como potencial substituto aos promotores de crescimento convencionalmente utilizados e buscando investigar sua interação sobre o metabolismo de codornas japonesas, objetivou-se avaliar a ação e os efeitos da suplementação do óleo essencial de alecrim na dieta de codornas japonesas em crescimento, através da análise do desempenho produtivo, ação antimicrobiana, perfil bioquímico sanguíneo, peroxidação lipídica no fígado e a expressão de genes no intestino em comparação a dietas contendo ou não promotor de crescimento.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Local de desenvolvimento do experimento, parcerias e comitê de Ética**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas de Animais de Produção da UFS (CEPAP) sob o protocolo de número 09/2015.

O experimento foi realizado no Setor de Coturnicultura do Departamento de Zootecnia (DZO) do Centro de Ciências Agrárias Aplicadas (CCAA) da Universidade Federal de Sergipe (UFS), localizado no *Campus Rural* da UFS (CRU) no município de São Cristóvão/SE, Brasil, latitude 10° 55' 278724" sul e longitude 37° 11' 573612" oeste.

As análises sanguíneas foram realizadas no Laboratório de Melhoramento Genético e Biotecnologia (LAMEB) do DZO/CCAA; a análise da peroxidação lipídica (TBARS) foi realizada em parceria com o Laboratório de Enzimologia, do Departamento de Fisiologia (DFS) e as análises microbiológicas no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Morfologia (DMO) do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS), todos eles pertencentes à UFS.

### **2.2. Extração do óleo essencial de alecrim (*Lippia gracilis shauer*)**

As partes aéreas das plantas da *Lippia gracilis shauer* foram coletadas pela manhã no CRU/UFS, alocadas em sacolas plásticas e levadas para o Laboratório de Fitotecnia do Departamento de Engenharia Agrônômica. Posteriormente, as folhas foram separadas do caule e então levadas para uma estufa de ventilação forçada à 55°C, onde permaneceram por cinco dias consecutivos.

Após obtenção das folhas pré-secas, foi pesado entre 75 e 80 gramas de folhas, e adicionado dois litros de água destilada em balão de fundo redondo com capacidade de 3 litros para extração do óleo. A extração do óleo essencial deu-se pelo método de hidrodestilação por meio do aparelho de Clevenger (SANTOS et al., 2004). Posteriormente, óleo essencial foi retirado e acondicionado em frasco de vidro cor âmbar para a proteção contra a luz e umidade. Em seguida, foi armazenado em geladeira a temperatura próxima de - 4 °C (TEIXEIRA et al., 2014). O rendimento do óleo foi de 3%.

### 2.3. Alojamento dos animais, delineamento experimental e tratamentos

As aves foram criadas em gaiolas de arame galvanizado medindo 50 cm de largura, 50 cm de comprimento e 40 cm de altura, dispostas em bancadas horizontais e equipadas com bebedouros tipo de pressão no período de 1 a 14 dias e do tipo “niple” no período de 15 a 35 dias. Em todas as aves os comedouros eram do tipo pendular. O piso das gaiolas foi coberto com cama de maravalha nova misturada a uma reutilizada, sendo 50% de cada, com o objetivo de aumentar o desafio sanitário.

Foram utilizadas 252 codornas (*Coturnix coturnix japonica*) fêmeas com dois dias de idade, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos, sete repetições e doze aves por unidade experimental. A duração do experimento foi de 34 dias. Os tratamentos consistiram numa dieta basal sem a adição de promotor de crescimento (controle negativo); dieta basal + 400 mg/kg de ração de óleo essencial de alecrim (*Lippia gracillis shauer*) e dieta basal + 500 mg/kg de ração do antimicrobiano Bacitracina Metileno Disalicilato (controle positivo).

As rações foram formuladas para atender às exigências nutricionais das codornas japonesas segundo recomendações contidas nas Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (2011) (**Tabela 1**). O óleo essencial de alecrim e o promotor de crescimento foram adicionados à dieta referência em substituição ao material inerte caulim. Sendo que, o óleo essencial foi misturado ao óleo de soja para facilitar o processo de diluição e o preparo da ração experimental. As rações foram preparadas e armazenadas em baldes brancos com tampa para proteção contra a luz solar.

### 2.4. Procedimentos experimentais

Diariamente, foram registrados os valores máximos e mínimos de temperatura e umidade relativa do ar no interior do galpão por meio de termo-higrômetro digital (AKSO AK28 new) situado no centro do galpão à altura correspondente a dos animais. Os dados foram coletados às 09:00 e às 14:30 horas e teve como objetivo verificar a amplitude térmica no interior da instalação.

O aquecimento dos pintainhos foi realizado através do uso de lâmpadas infravermelhas de 250 watts localizadas acima das gaiolas e lâmpadas de 100 watts localizadas dentro das gaiolas. Também foi utilizada cortinas nas laterais do galpão para auxiliar no controle da temperatura. A limpeza dos bebedouros e comedouros e o nível

adequado de ração foram verificados diariamente. As rações experimentais e a água foram fornecidas à vontade durante todo o período experimental.

**Tabela 1** – Composição percentual e calculada das dietas experimentais

<b>Ingredientes</b>	<b>Composição das dietas experimentais (%)</b>		
	<b>Controle negativo</b>	<b>Óleo essencial</b>	<b>Controle positivo</b>
Milho	57,121	57,121	57,121
Farelo de Soja - 45% PB	38,350	38,350	38,350
Óleo de Soja	1,070	1,070	1,070
Fosfato Bicálcico	1,385	1,385	1,385
Calcário Calcítico	1,198	1,198	1,198
Sal Comum	0,395	0,395	0,395
L-Lisina HCl	0,033	0,033	0,033
DL-Metionina	0,164	0,164	0,164
L-Treonina	0,034	0,034	0,034
Premix Vitaminico e Mineral <sup>1</sup>	0,200	0,200	0,200
Inerte- Caulim	0,050	0,010	-
<b>Promotores de crescimento</b>	<b>-</b>	<b>0,040</b>	<b>0,050</b>
Total	100,00	100,00	100,00
<b>Composição Nutricional</b>			
Energia Metabolizável (Kcal/Kg)	2900	2900	2900
Proteína Bruta (%)	22,00	22,00	22,00
Cálcio (%)	0,900	0,900	0,900
Fósforo Disponível (%)	0,375	0,375	0,375
Sódio (%)	0,176	0,176	0,176
Cloro (%)	0,289	0,289	0,289
Potássio (%)	0,867	0,867	0,867
<b>Aminoácidos Digestíveis (%)</b>			
Metionina Digestível	0,457	0,457	0,457
Metionina+Cistina Digestível	0,760	0,760	0,760
Lisina Digestível	1,120	1,120	1,120
Treonina Digestível	0,790	0,790	0,790
Triptofano Digestível	0,251	0,251	0,251

<sup>1</sup>Composição do Premix vitamínico + mineral//kg: ácido fólico (min) 150mg, ácido pantotênico (min) 6000mg, biotina (min) 40mg, cobre (min) 1400mg, ferro (min) 6000mg, iodo (min) 915mg, manganês (min) 17g, niacina (min) 13g, selênio (min) 300mg, vitamina A (min) 5.000.000 UI, vitamina B12 (min) 6500mg, vitamina B2 (min) 2000mg, vitamina B6 (min) 250mg, vitamina D3 (min) 1.600.000 UI, vitamina E (min) 4000 UI, vitamina K3 (min) 1000mg, zinco (min) 38g.

## 2.5. Desempenho

Para análise do desempenho, ao final do experimento, as aves e a ração fornecida foram pesadas para o cálculo do peso (g/ave), ganho de peso (g/dia/ave), consumo de ração (g/dia/ave) e conversão alimentar (g/g). O ganho de peso foi determinado através da diferença entre o peso das aves no final e no início. O consumo de ração foi determinado pela diferença entre as pesagens da ração fornecida e a sobra nos comedouros. Já a conversão alimentar foi determinada pela relação entre o consumo de ração e o ganho de peso de cada parcela.

O registro de mortalidade foi realizado diariamente e, quando necessário, utilizado para correção do consumo de ração.

Ao final do experimento, seis aves de cada tratamento com o peso próximo a média da parcela foram selecionadas para coletas dos materiais para análises da peroxidação lipídica, parâmetros sanguíneos e expressão gênica. Com relação à análise da microbiologia intestinal, foram selecionadas quarenta e duas aves, sendo duas de cada repetição e abatidas, sem jejum alimentar, por deslocamento cervical.

O abate foi realizado de acordo com metodologia proposta pela Instrução Normativa número 3, de janeiro de 2000 publicada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000).

## 2.6. Microbiologia intestinal

Foi realizada a coleta do conteúdo do intestino delgado, onde o segmento foi aberto e coletado o material de seu interior, estas amostras foram acondicionadas em potes estéreis e armazenadas em caixas isotérmicas sendo, em seguida, encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia da UFS. O material coletado foi pesado e acondicionado em tubo Falcon contendo solução salina tamponada (5,61g de NaCl, 1g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2g de Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e 0,11g de KCl em 1.000mL de água destilada) e 10% de glicerol utilizado como crioprotetor e, em seguida, congelado a -4°C.

Foi utilizado o Caldo EC Broth para o cultivo de *Escherichia coli*, o Ágar Sal Manitol para *Staphylococcus ssp*, o Caldo Rappaport Vassiliadis para *Salmonella spp*, e o Caldo BHI (Brain Heart Infusion) com adição de 2% de Dextrose para *Lactobacillus ssp*. Sendo que os caldos tiveram adição de 2,5% de ágar base. Todos os meios foram produzidos respeitando as recomendações descritas pelos fabricantes e esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos.

Após a preparação dos meios, os mesmos foram colocados nas placas de petri para solidificação e em seguida na estufa para secagem. As placas estavam prontas para uso no dia seguinte. Para análise de todos os microrganismos, as amostras foram descongeladas à temperatura ambiente e, logo após, realizaram-se diluições seriadas ( $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ ) usando solução salina tamponada.

Foi semeado 1 mL de cada diluição em placas de petri estéreis em duplicata para o crescimento das colônias. Após espalhar o inoculo com alça de Drigalski, as placas foram incubadas a 37°C em estufa por 24 horas.

A contagem dos microrganismos foi feita de acordo a fórmula: número de unidades formadoras de colônias x diluição, seguido da média de cada diluição seriada. Todos os resultados foram expressos em UFC/g (unidade formadora de colônia/grama).

## **2.7. Análise da peroxidação lipídica (TBARS)**

Os fragmentos do fígado foram coletados, armazenados em tubos falcon e imediatamente imersos em nitrogênio líquido. Em seguida, foram transferidos para freezer a -80°C até o momento da análise.

Para avaliar os processos oxidativos sobre os lipídeos, a determinação da concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi analisada segundo o método descrito por Buege & Aust (1978). Foram pesados 100 mg de tecido, triturado e adicionado em 1mL de tampão fosfato (0,1M pH de 7,4).

O homogenato foi centrifugado a 4°C por 10 minutos a 10000 g. Foi coletado 500 µL do sobrenadante e a este acrescentado 250µL de TCA (ácido tricloroacético) 28% diluído em HCl 0,25N, 250µL de ácido tiobarbitúrico 1% diluído em ácido acético (1:1), e 125 µL de BHT (hidroxi tolueno butilado) 5 mM. A solução foi homogeneizada utilizando o vortex e a mesma foi aquecida em banho-maria por 15 minutos a 95°C. Posteriormente, foi centrifugada a 4°C por 10 minutos a 10000 g e realizada a leitura do sobrenadante em espectrofotômetro a 535 nm.

A concentração de TBARS foi determinada utilizando o coeficiente de extinção molar  $\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ , segundo a lei de Lambert Beer. Para ajuste da análise enzimática, a quantificação de proteínas totais foi realizada pelo método de Bradford (1976).

## **2.8. Análises dos parâmetros sanguíneos**

Imediatamente após a insensibilização, foi realizada a sangria, seguido da coleta do conteúdo sanguíneo individualmente. Após coleta, as amostras de sangue foram acondicionadas em tubos contendo heparina e então reservadas em isopor contendo gelo, sendo encaminhadas ao Laboratório de Melhoramento Genético e Biotecnologia (LAMEB) para serem processadas.

O sangue coletado foi centrifugado a 1500g por 10 minutos a 4°C para obtenção do plasma e posteriormente armazenados à temperatura de -20°C até a realização das análises. Foram analisadas as atividades das aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), o conteúdo de creatinina e do ácido úrico utilizando os seguintes kits comerciais (Labtest®): AST/GOT LIQUIFORM 109-2/100, ALT/GPT LIQUIFORM 108-2/100, CREATININA 35-100 e ÁCIDO ÚRICO LIQUIFORM 140-1/250, respectivamente, de acordo com a metodologia indicada pelo fabricante. Os testes foram realizados por método cinético, em espectrofotômetro de microplacas EPOCH.

## **2.9. Expressão gênica**

As análises de expressão gênica foram realizadas com o segmento do duodeno. Após a evisceração, os segmentos do duodeno foram colocados sobre bandeja higienizada e esterilizada e abertos com o auxílio de tesouras e pinças até obtenção de parte dos segmentos, os quais foram lavados. Em seguida, estas amostras foram acondicionadas em RNA later® (BioAgency Biotecnologia, Brasil) e mantidos em geladeira por 24 horas e armazenadas em freezer a -80°C até o momento da análise.

O RNA foi extraído com uso do reagente Trizol® (Invitrogen, Carlsbad CA, USA) de acordo com as normas do fabricante, na proporção de 1,0 mL para cada 100 mg de tecido. O tecido foi triturado com homogenizador elétrico Polytron (tecido + Trizol) até a sua completa dissociação. Em seguida, 200 µL de clorofórmio foram adicionados nas amostras, as quais foram homogeneizadas manualmente por 1 minuto. As amostras foram então centrifugadas por 15 minutos a 12000 g, a 4°C. A fase aquosa foi coletada e transferida para um tubo estéril, adicionando em seguida, 500 µL de isopropanol por tubo e foi reservada a temperatura ambiente (25°C) por 10 minutos.

Em seguida, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 12000 g, a 4°C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi lavado com 1,0 mL de etanol 75%. Mais uma vez o material foi centrifugado a 7500 g por 5 minutos a 4°C, e logo após a centrifugação, o

sobrenadante foi descartado. Por fim, o pellet permaneceu secando por 15 minutos e em seguida foi ressuspendido em água ultrapura livre de RNase.

A concentração do RNA total foi mensurada via espectrofotômetro no comprimento de onda de 260 nm. Para confecção do cDNA, foi utilizado o kit GoScript™ Reverse Transcription System (Promega Corporation, USA) de acordo com as normas do fabricante. Em tubo estéril e livre de RNA, foram adicionados 4 µL de RNA total tratado com DNase e 1 µL de Oligo(dT)15 Primer. A reação foi incubada Thermal Cyclers (Bio-Rad Corporation, Brasil) por 5 minutos a 65°C e depois por 2 minutos a 4°C. Foram adicionados em seguida 2 µL de GoScript™ 5X Reaction Buffer, 1,4 µL de MgCl<sub>2</sub> (25mM), 1 µL de PCR Nucleotide Mix, 1 µL GoScript™ Reverse Transcriptase e 5,6 µL de Nuclease-Free Water. A solução foi incubada no Thermal Cyclers (Bio-Rad Corporation, Brasil) por 30 minutos a 37°C, 5 minutos a 95°C e 10 minutos a 4°C.

Para as reações de PCR em tempo real, foi utilizado o corante fluorescente SYBR GREEN (SYBR® GREEN PCR Máster Mix (Applied Biosystems, USA). As análises de PCR em tempo real foram realizadas no aparelho CFX96™ IVD Real-Time PCR Systems (Bio-Rad Laboratories, USA). A reação de amplificação consistiu em 5 µL de cDNA diluído, 0,5 µL de cada primer (forward e reverse) a 10 µM, 12,5 µL de SYBR® GREEN PCR Master Mix e água até um volume total de 25 µL. Para medir cada eficiência da reação do gene, uma série de reações de 25 µL foi realizada semelhante à anterior, utilizando sempre 5 µL de pool de cDNA derivado de uma diluição em série (80, 40, 20 e 10 ng).

Os primers utilizados nas reações de amplificação dos genes cotransportador sódio-glicose 1 (*SGLT1*), transportador de glicose 2 (*GLUT2*), glutatona peroxidase (*GPX*) e catalase (*CAT*) foram desenhados de acordo com as sequências dos seus respectivos genes, e depositadas no site [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) (número de acesso NM\_205064.1, NM\_001163245.1, XM\_015863594.1 e NM\_204267.1) (Tabela 2). O gene da *β-actina* (número de acesso L08165) foi utilizado como endógeno. Todas as análises foram realizadas em um volume de 25 µL e em duplicatas.



**Tabela 2-** Primers para qRT-PCR

Genes	Amplicom (Pb)	TA (°C)	Sequências dos primers (5'-3') <sup>1</sup>
SGLT1 <sup>2</sup>	160	60	GCCATGGCCAGGGCTTA CAATAACCTGATCTGTGCACCAGTA
GLUT2	180	60	CGCAGAAGGTGATAGAAGC ACACAGTGGGGTCCTCAAAG
GPX7	140	60	TTGTAAACATCAGGGGCAAA TGGGCCAAGATCTTTCTGTAA
CAT	76	60	TTGGGTTGGCTCGTTGAGG CGGAGCTACAGAAGCACGAT
<i>β-actina</i>	136	60	ACCCCAAAGCCAACAGA CCAGAGTCCATCACAATACC

<sup>1</sup>Pb,Pares de base; TA, temperatura de anelamento; <sup>2</sup> *SGLT1*, cotransportador sódio-glicose 1; GLUT2, transportador de glicose 2; *GPX7*, Glutathione peroxidase 7; *CAT*, catalase.

## 2.10. Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA) e as médias comparadas utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises microbiológicas foram realizadas de forma descritiva.

### 3. RESULTADOS

No período de criação de 2 a 14 dias, as temperaturas máximas e mínimas registradas foram de 36°C e 28°C, respectivamente, com umidade relativa do ar de 37%. Enquanto que no período de 14 a 35 dias as temperaturas máximas e mínimas foram de 34°C e 24°C, respectivamente, com umidade relativa do ar de 46%.

#### 3.1- Desempenho

Não houve efeito ( $P>0,05$ ) dos tratamentos sobre o peso final aos 35 dias nem sobre o ganho de peso diário das aves (**Tabela 3**). Entretanto, o consumo de ração foi maior ( $P<0,01$ ) no tratamento contendo o antimicrobiano convencional em comparação aos animais que consumiram o óleo essencial. A conversão alimentar foi melhor ( $P<0,01$ ) nos animais que consumiram o óleo essencial em comparação ao tratamento contendo o antimicrobiano convencional.

**Tabela 3** - Desempenho de codornas japonesas alimentadas com diferentes promotores de crescimento no período de 2 a 35 dias

Parâmetros	Tratamentos			Valor P
	Controle negativo	Óleo essencial	Controle positivo	
Peso inicial (g/ave)	6,65±0,14	6,77±0,19	6,82±0,19	-
Peso final (g/ave)	121,78±1,20	120,62±1,69	121,57±0,61	0,79
Consumo de ração (g/ave/dia)	11,75±0,48 <sup>ab</sup>	10,68±0,23 <sup>b</sup>	12,56±0,31 <sup>a</sup>	<0,01
Ganho de peso (g/ave/dia)	3,38±0,03	3,32±0,06	3,37±0,02	0,58
Conversão alimentar (g/g)	3,47±0,11 <sup>ab</sup>	3,22±0,11 <sup>a</sup>	3,72±0,07 <sup>b</sup>	<0,01

Os resultados estão apresentados com as médias e seus respectivos erros padrões (EP). Médias seguidas de letras diferentes nas mesmas linhas, diferem entre si pelo teste Tukey.

#### 3.2- Microbiologia

O crescimento da *Escherichia coli* foi restringido nos animais que consumiram ambos os promotores de crescimento (**Tabela 4**). Houve menor crescimento da bactéria *Salmonella* no tratamento contendo o antimicrobiano convencional. Com relação ao crescimento da bactéria *Staphylococcus ssp.*, codornas alimentadas com a dieta controle apresentaram o menor crescimento bacteriano. Entretanto, maior crescimento de *Lactobacillus ssp.* foi observado em codornas alimentadas com óleo essencial de alecrim.

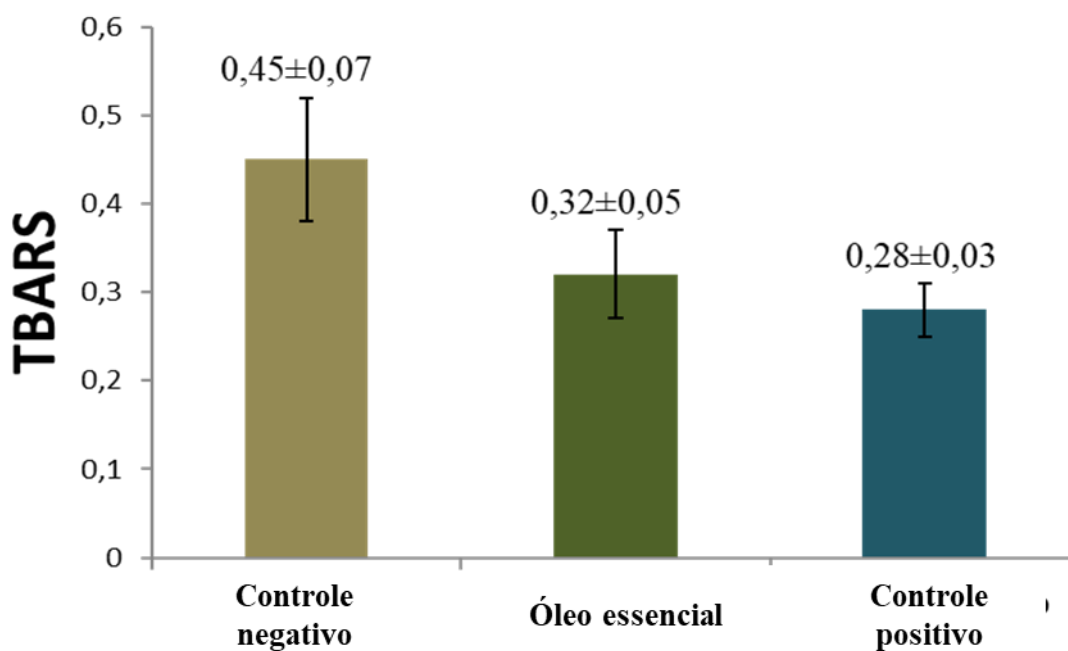
**Tabela 4** - Microbiologia do conteúdo intestinal de codornas japonesas aos 35 dias de idade em função dos tratamentos

Microrganismos (UFC/g <sup>1</sup> )	Tratamentos		
	Controle negativo	Óleo essencial	Controle positivo
<i>Escherichia coli</i>	7,19x10 <sup>8</sup>	NC <sup>2</sup>	NC <sup>2</sup>
<i>Salmonella ssp</i>	2,9x10 <sup>6</sup>	6,7x10 <sup>6</sup>	5,8x10 <sup>4</sup>
<i>Staphylococcus ssp</i>	2,67x10 <sup>4</sup>	6,82x10 <sup>5</sup>	1,55x10 <sup>6</sup>
<i>Lactobacillus ssp</i>	9,37x10 <sup>4</sup>	2,30x10 <sup>6</sup>	6,13x10 <sup>4</sup>

<sup>1</sup>UFC/g- Unidade formadora de colônias por gramas; <sup>2</sup>NC- Não houve crescimento da bactéria analisada.

### 3.3- Peroxidação Lipídica

Não houve efeito ( $P=0,10$ ) da adição dos promotores de crescimento à dieta sobre a quantidade de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no fígado das aves (Figura 3).



**Figura 3** - Concentração de TBARS (nmol/mg de Proteína) no fígado de codornas japonesas em função dos tratamentos. Os resultados são médias com seus erros padrões representados pela barra vertical.

### 3.4- Parâmetros sanguíneos

Observou-se que não houve diferença entre tratamentos ( $P>0,05$ ) para a concentração das enzimas AST e ALT (**Tabela 5**). Houve redução da concentração de ácido úrico ( $P<0,01$ ) nos animais que consumiram o antimicrobiano convencional em relação aos que consumiram óleo essencial de alecrim e em relação ao controle. Também houve redução na concentração de creatinina ( $P=0,02$ ) nas codornas que consumiram o antimicrobiano convencional em relação ao tratamento controle. Entretanto não houve efeito ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos controle e com o uso de óleo essencial.

**Tabela 5** - Parâmetros sanguíneos de codornas japonesas alimentadas com diferentes promotores de crescimento

Parâmetros Sanguíneos	Tratamentos			Valor P <sup>1</sup>
	Controle negativo	Óleo essencial	Controle positivo	
AST (U/L) <sup>2</sup>	342,24±16,39	341,31±19,43	283,8±25,59	0,09
ALT (U/L) <sup>3</sup>	29,52±4,03	22,94±2,94	21,51±1,80	0,14
ÁC. ÚRICO <sup>4</sup> (mg/dL)	5,09±0,36 <sup>a</sup>	5,52±0,24 <sup>a</sup>	3,21±0,25 <sup>b</sup>	<0,01
CREATININA (mg/dL)	2,93±0,25 <sup>a</sup>	2,55±0,10 <sup>ab</sup>	2,35±0,04 <sup>b</sup>	0,02

<sup>1</sup>Valor de probabilidade; <sup>2</sup>AST – Aspartato aminotransferase; <sup>3</sup>ALT - Alanina aminotransferase; <sup>4</sup>ÁC. úrico – Ácido úrico. Os resultados estão apresentados com suas médias e seus erros padrões (EP). Médias seguidas de letras diferentes nas mesmas linhas, diferem entre si pelo teste Tukey.

### 3.5- Expressão gênica

O tratamento controle expressou maior ( $P<0,01$ ) quantidade do gene cotransportador sódio-glicose 1 (*SGLT1*) em relação ao contendo o óleo essencial de alecrim e o contendo o antimicrobiano convencional. Entretanto, não houve efeito ( $P=0,72$ ) entre os tratamentos para o gene transportador de glicose 2 (*GLUT2*). É possível observar que as aves alimentadas com adição de óleo essencial de alecrim apresentaram menor ( $P=0,04$ ) expressão do gene glutathione peroxidase 7 (*GPX7*) em comparação ao tratamento controle. Já as aves alimentadas com o antimicrobiano convencional expressaram maior ( $P=0,02$ ) concentração de catalase (*CAT*) em relação às aves que consumiram o óleo essencial de alecrim.

**Tabela 6** - Expressão de genes no intestino de codornas japonesas alimentadas com diferentes promotores de crescimento

Genes	Tratamentos			Valor de P <sup>1</sup>
	Controle negativo	Óleo essencial	Controle positivo	
SGLT1 <sup>2</sup>	0,002±0,0003 <sup>a</sup>	0,0002±0,00006 <sup>b</sup>	0,0005±0,0002 <sup>b</sup>	<0,01
GLUT2 <sup>3</sup>	0,0002±0,00007	0,0003±0,00007	0,0002±0,00004	0,72
GPX7 <sup>4</sup>	0,0702±0,01187 <sup>a</sup>	0,0238±0,00405 <sup>b</sup>	0,058±0,01531 <sup>ab</sup>	0,04
CAT <sup>5</sup>	1009,92±128,3831 <sup>ab</sup>	596,8537±56,0752 <sup>b</sup>	1157,49±143,9262 <sup>a</sup>	0,02

<sup>1</sup>Valor de probabilidade; <sup>2</sup>*SGLT1*– cotransportador sódio-glicose 1; <sup>3</sup>*GLUT2*– transportador de glicose;

<sup>4</sup>*GPX7*–glutathione peroxidase 7; <sup>5</sup>*CAT* – catalase. Os resultados são médias om seus erros padrões.

#### 4. DISCUSSÃO

Para todas as variáveis de desempenho avaliadas, os tratamentos com promotores de crescimento não diferiram do tratamento controle negativo, possivelmente pela densidade de alojamento dentro do ideal para as codornas e boas condições ambientais, demonstrando que a utilização de maravalha nova misturada a reutilizada não foi suficiente para intensificar o desafio sanitário; fato este que favoreceu o bom desempenho das aves em todos os tratamentos, em especial daquelas do tratamento controle negativo; visto que estas chegaram ao peso adulto dentro da idade desejada. Além disto, as temperaturas registradas encontravam-se dentro dos parâmetros para codornas em fase de crescimento e, por isto, qualquer diferença entre tratamentos é em virtude dos antimicrobianos utilizados.

Animais criados em boas condições sanitárias e com baixo estresse, seja ele nutricional, ambiental ou emocional, podem apresentar melhores condições imunológicas (FUKAYAMA et al., 2005; DIAS et al., 2015) e, portanto, se desenvolveram dentro dos padrões da espécie.

Embora o peso final e o ganho de peso dos animais não terem sido influenciados pelos tratamentos, houve redução no consumo alimentar das codornas que consumiram o óleo essencial de alecrim em relação aquelas do tratamento controle positivo e, por isto, obtiveram melhor conversão alimentar. Este resultado demonstrou que o uso do óleo essencial do alecrim tornou a produção mais viável, visto que os animais necessitaram consumir menor quantidade de alimentos para obter o mesmo ganho de peso.

Rizzo et al. (2010) ao avaliarem a adição de uma mistura de extratos vegetais contendo orégano, canela e óleo-resina de pimenta a dieta de frangos na fase de 1 a 21 dias, também não observaram diferenças nas variáveis peso final e ganho de peso entre os tratamentos. Entretanto, melhor conversão alimentar foi obtida nas aves que receberam a dieta contendo os extratos vegetais comparada ao tratamento com adição de antibiótico.

A melhor conversão alimentar obtida pelas aves que consumiram o óleo essencial de alecrim pode ser evidenciada pelo fato desse tratamento inibir o crescimento de *Escherichia coli* no organismo das codornas, assim como proporcionar aumento na população dos *Lactobacillus* spp. A maior população das bactérias benéficas no organismo das codornas, auxiliou no controle das bactérias patogênicas, através da redução do pH intestinal (produção de ácido acético e láctico), disputa por sítios de ligação intestinais e produção de bacteriocinas; fortaleceu o sistema imune, por aumentar a atividade de macrófagos e linfócitos e a produção de vitaminas, sendo requisitado menos nutrientes e como

consequência, favorecendo o desempenho das aves, pela maior disponibilidade de nutrientes (HUME, 2011).

Estes resultados podem ser comprovados pelas informações contidas em Koiyama *et al.*, (2014), os quais relataram que os aditivos fitogênicos promoveram melhor equilíbrio do meio gastrointestinal, devido à maior quantidade de microrganismos benéficos e inibição da biota patogênica, favorecendo desta forma, a absorção de nutrientes.

Resultados similares foram obtidos por Sousa et al. (2013) ao utilizarem o óleo essencial de aroeira-vermelha contendo o composto majoritário  $\alpha$ -pineno em dietas de frangos de corte, sendo que também observaram redução da população de *Escherichia coli* e *Staphylococcus* ssp. e aumento da população de *Lactobacillus* ssp. quando comparado ao tratamento controle; não diferindo do tratamento contendo o antimicrobiano bacitracina de zinco. Cabe ressaltar que, a quantidade de óleo essencial utilizada por esses autores foi dez vezes maior do que a testada no presente trabalho, demonstrando a eficácia dos componentes do óleo essencial de alecrim sobre a microbiota intestinal.

Os tratamentos contendo os promotores de crescimento obtiveram maior população de *Staphylococcus* ssp. ( $6,82 \times 10^5$  para óleo essencial vs.  $1,55 \times 10^6$  para o tratamento controle positivo vs.  $2,67 \times 10^4$  para o tratamento controle negativo) comparado ao controle negativo. Entretanto, estes valores estão próximos aos encontrados por Sousa et al. (2013) os quais observaram a concentração de  $6,1 \times 10^5$  vs.  $3,8 \times 10^4$  utilizando o antimicrobiano e o óleo essencial, respectivamente; e sugerem que possivelmente estejam dentro dos parâmetros normais para aves. Apesar do óleo essencial de alecrim não ter promovido ação contra *Salmonella* ssp. e *Staphylococcus* ssp., o mesmo proporcionou um ambiente favorável à multiplicação das bactérias ácido-láticas do tipo *Lactobacillus* spp.

Os óleos essenciais de plantas aromáticas, tais como o óleo essencial de alecrim, contêm compostos fenólicos que exercem propriedades antimicrobianas. O timol e o carvacrol são os compostos majoritários do óleo essencial de alecrim (*Lippia gracilis shuaer*) e estes possuem forte atividade antimicrobiana contra fungos e bactérias (GOMES et al., 2011). Estes compostos são hidrofóbicos, aderem e se acumulam na bicamada lipídica dos microrganismos, provocando desordens na função e na estrutura da membrana; penetram na célula e, dessa forma, exercem atividade inibitória no citoplasma, causando lise intracelular (SILVA et al., 2009), influenciando negativamente no crescimento de bactérias patogênicas, particularmente sobre as bactérias gram-positivas.

O óleo essencial apresenta caráter lipofílico na parede das células bacterianas. Entretanto, a ausência de efeito do óleo essencial sobre as bactérias do gênero *Salmonella*

ssp., pode ser justificado devido à resistência destas bactérias a produtos como o óleo. De acordo com Dorman e Deans (2000), as bactérias gram-negativas possuem uma membrana externa composta por lipopolissacarídeos, formando uma superfície hidrofílica que dificulta à permeabilidade das substâncias hidrofóbicas como óleos essenciais, o que aumenta a resistência de bactérias gram-negativas a esses aditivos.

Outra justificativa seria a composição química do óleo, onde os constituintes minoritários do óleo essencial de alecrim, tais como o p-cimeno ou  $\gamma$ -terpineno, podem estar em menores concentrações e, por isto, não terem intensificado a ação antimicrobiana, em especial sobre as bactérias do gênero *Salmonella* ssp.; pois de acordo com Burt (2004), as menores concentrações de p-cimeno ou  $\gamma$ -terpineno podem influenciar o transporte do carvacrol através da membrana citoplasmática para o interior da célula bacteriana e afetar o potencial antimicrobiano do óleo. Chorianopoulos *et al.* (2004) e Magwa *et al.* (2006), também observaram que componentes em baixas concentrações podem provocar interações sinérgicas, aditivas ou antagônicas, influenciando a ação antimicrobiana.

Embora o tratamento com utilização do óleo essencial não tenha reduzido a população de *Salmonella* ssp., de acordo com ANDREATTI-FILHO (2007) esta bactéria quando em baixas concentrações podem estar presentes no intestino das aves, desde que esteja em equilíbrio com a microbiota intestinal e, desta maneira, não irá provocar o aparecimento de sinais clínicos. Vale ressaltar ainda que a *Salmonella* ssp. é uma bactéria natural do trato gastrointestinal de aves e presente nas camas dos aviários, sendo de difícil controle.

Apesar do óleo essencial de alecrim não ter diminuído a população de *Salmonella* ssp., o mesmo promoveu inibição da *Escherichia coli*, que também é uma bactéria gram-negativa, talvez pelo mecanismo de reação destas bactérias contra o óleo serem diferentes, sendo a *Escherichia coli* mais susceptível ao aditivo fitogênico. Em estudos *in vitro*, têm-se observado que a presença do carvacrol e timol, exercem alto potencial inibitório contra esta bactéria.

Como pode ser observado em pesquisa *in vitro* realizada por Cardoso-Júnior (2017), avaliando o poder inibitório do óleo essencial do alecrim frente a bactérias patogênicas, onde observou-se halos de inibição de 27,45mm contra *Escherichia coli*, valores considerados altamente sensível pela Clinical And Labotarial Standart Institute (2015). Santurio *et al.* (2011) ao avaliar o poder inibitório *in vitro* do óleo essencial de diferentes condimentos tais como a canela, orégano mexicano, manjerição, orégano, alecrim, sálvia, tomilho e gengibre frente amostras de *Escherichia coli*, observaram que o óleo essencial de orégano, que



também tem como frações majoritárias o carvacrol e o timol, apresentou atividade antimicrobiana (Concentrações Inibitórias Mínimas e Concentrações Bactericidas Mínimas) superior aos óleos de canela, tomilho e orégano mexicano, que também apresentaram atividade bactericida.

Os tratamentos contendo promotores de crescimento exerceram efeito sobre o controle bacteriano. No entanto, houve ausência de efeitos dos tratamentos testados referentes à concentração das enzimas AST e ALT. Isso ocorreu possivelmente pelo fato das aves não terem sido submetidas a nenhum tipo de estresse, ao ótimo controle ambiental, nutrição adequada para a fase e sem excessos proteicos, assim como baixa carga patogênica, indicando que não houve patologias hepáticas a este nível. Também pôde ser verificado que o consumo do aditivo fitogênico não provocou toxicidade, visto que não pôde ser visualizado sobrecarga do fígado, já que não houve alterações nas concentrações das enzimas hepáticas.

Polat et al. (2011), analisaram o perfil bioquímico sérico de frangos de corte alimentados com dietas contendo 100, 150 e 200 mg/kg de óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e também observaram ausência de efeito ( $P>0,05$ ) para os níveis da enzima AST e ALT nos animais que consumiram o óleo essencial de alecrim em relação ao tratamento controle. Sendo assim, este mecanismo necessita de mais estudos para averiguar se quando as aves são submetidas a situações de estresse há efeito do aditivo fitogênico sobre a incidência de lesões hepáticas.

Os resultados também demonstram que as codornas pertencentes ao tratamento controle positivo obtiveram a função renal melhorada, mesmo com o maior consumo de dieta e, conseqüentemente, proteína, como demonstrado nos resultados de desempenho; fato este demonstrado pela redução dos compostos ácido úrico e creatinina.

Em pesquisa desenvolvida por Traesel et al. (2011b), os autores avaliaram os níveis séricos de ácido úrico e também observaram redução deste em frangos de corte que consumiram dietas com antibióticos comparado ao tratamento com adição de 150 mg/kg de uma mistura de óleo essencial de orégano, sálvia, alecrim e extrato de pimenta.

Apesar do tratamento controle positivo ter proporcionado redução dos níveis de ácido úrico nas aves (5,09 vs. 5,52 vs. 3,21 mg/dL para o tratamento controle negativo, óleo essencial de alecrim e controle positivo, respectivamente), todos os tratamentos estão em conformidade com as informações contidas em Thrall et al. (2007) e Campbell (2006) os quais demonstraram que os níveis normais de ácido úrico em aves estão entre 0-15 mg/dL, demonstrando que não houve sobrecarga renal nas codornas. Ainda segundo Campbell

(2006), fatores como idade, sexo, espécie, tipo de dieta, estado reprodutivo, trauma e estresse ambiental podem influenciar na concentração de ácido úrico sérico nas aves.

Assim como o ácido úrico, também não foram observadas diferenças para os níveis de creatinina entre os tratamentos controle negativo e o contendo óleo essencial de alecrim. Entretanto, Polat et al. (2011) observaram aumento nos níveis de creatinina em frangos alimentados com dietas contendo 200 mg/kg de óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), comparado ao tratamento controle. De acordo com Harr (2002) e Fudge (2000) o nível de creatinina é baixo em aves. No entanto, ainda são escassos na literatura valores de referências para o conteúdo de creatinina para codornas, dificultando a análise sobre esta variável.

Com relação a expressão dos genes, houve maior expressão do transportador *SGLT1* no tratamento controle negativo quando comparado aos tratamentos contendo promotores de crescimento. Este transportador de glicose está presente na membrana apical dos enterócitos e é dependente do sódio para que se tenha boa absorção de glicose para o lúmen do enterócito. Desta forma, as codornas do tratamento controle negativo tiveram de melhorar a captação de glicose por meio desta via para assim, o desempenho ser mantido similar aos demais tratamentos, justificando o ganho de peso e o peso final similares aos demais tratamentos.

Como o transporte de glicose do interior dos enterócitos ocorre por meio de transporte passivo, através do transportador de glicose (*GLUT2*), não foi observado diferenças ( $P=0,72$ ) entre tratamentos para esta variável. De acordo com Araújo & Martel (2009), o *GLUT2* e *SGLT1* atuam conjuntamente no processo de absorção intestinal de glicose a fim de regulamentar os níveis de glicose no enterócito e possivelmente no plasma, causando um equilíbrio no processo absorptivo.

Ainda foi observado que as codornas que consumiram o óleo essencial de alecrim expressaram em menor proporção o gene *GPX7*, provavelmente isso ocorreu como uma resposta à um melhor ambiente intestinal, visto que a glutatona peroxidase atua na defesa orgânica contra os radicais livres. Desta forma, como houve melhor equilíbrio bacteriano nas aves que consumiram o óleo essencial de alecrim na dieta, menor quantidade de *GPX7* foi necessária para combater os radicais livres e os processos oxidantes. Por isto, no tratamento controle negativo a expressão do agente antioxidante foi maior.

De acordo com Alberto et al. (2010) a enzima *GPX* faz parte do sistema de defesa do organismo, sendo importante frente as substâncias nocivas formadas durante o metabolismo do oxigênio, tais como peróxidos de hidrogênio e seus derivados, convertendo-os em água

ou álcoois. A *GPX* age conjuntamente com a *CAT*, evitando o acúmulo de peróxidos de hidrogênio no organismo (KOIVULA & EEVA, 2010). Quando estes peróxidos estão em maiores concentrações, há uma maior atividade e concentração de *GPX* e *CAT* para agir no controle contra os radicais livres.

A menor expressão da enzima *CAT* nas codornas que consumiram o óleo essencial de alecrim na dieta estão de acordo aos observados na literatura, visto que houve menor necessidade de ação de compostos antioxidantes, tanto do *GPX7* quanto da *CAT*, nas codornas que consumiram o óleo essencial de alecrim, haja visto que os componentes majoritários timol e carvacrol atuaram de forma inibitória sobre o crescimento da bactéria patogênica *Escherichia coli*, que em grandes quantidades podem degradar o lúmen intestinal e influenciar o desempenho das codornas.

Dentre os prejuízos provocados pelo aumento da proliferação bacteriana patogênica estão processos inflamatórios que levam ao espessamento da parede intestinal, o que vai reduzir a absorção, aumentar a excreção de metabolitos e toxinas que desencadeiam enterites (FIGUEIRA *et al.*, 2014), promovendo consequentemente, o aumento da produção de radicais livres no intestino. Portanto, a utilização de óleos essenciais à dieta de codornas pode diminuir a produção de radicais livres devido às melhorias no ambiente intestinal provocado pelo equilíbrio bacteriano.

O teste TBARS avalia a peroxidação lipídica através da mensuração do MDA (malondialdeído), que é um dos principais produtos finais da peroxidação dos ácidos graxos, que reage com o ácido tiobarbitúrico (YOSHIOKA *et al.*, 1979) e, dessa forma, determina a extensão do dano oxidativo de membranas celulares (TRAESSEL *et al.*, 2011a). Os compostos fenólicos presentes nos óleos essenciais são os principais responsáveis pela ação antioxidante, pois agem como doadores de hidrogênio, reduzindo a produção de peróxidos de hidrogênio (PEREIRA & MAIA, 2007).

Os resultados demonstram que as codornas se encontravam em equilíbrio metabólico, ou seja, os sistemas de defesa antioxidante estavam agindo de forma eficiente, não sendo exigido atuação de compostos antioxidantes de origem dietética, dados reforçados pela expressão dos genes antioxidantes. Devido todas as codornas estarem alojadas em ambiente similar, as condições favoráveis de temperaturas e o possível baixo grau de ativação imunitário, não induziram as aves ao estresse oxidativo intenso a ponto de afetar a saúde das aves, indicando boa condição de saúde e respostas fisiológicas adequadas, confirmado pelo desempenho similar entre as aves, principalmente pelo peso aos 35 dias de vida, dentro dos padrões para a espécie, mesmo no tratamento controle negativo.

Traesel et al., (2011a) também observaram redução da peroxidação plasmática de lipídeos ao utilizarem uma mistura de óleos essenciais de orégano, alecrim, sálvia e extrato de pimenta em níveis crescentes na dieta de frangos de corte. De acordo com Windisch et al. (2008), os compostos fitogênicos podem contribuir para a proteção dos lipídios da dieta contra danos oxidativos similarmente ao  $\alpha$ -tocoferol acetato ou butil-hidroxitolueno. Entretanto, este mecanismo necessita ser melhor investigado.

Pelos resultados demonstrados, o controle da peroxidação através do *GPX7* e da *CAT* foram suficientes para manter o processo oxidativo a ponto de não afetar a concentração do TBARS. O sistema antioxidante enzimático é o primeiro meio de defesa do organismo contra-ataques das espécies reativas de oxigênio, em que agem impedindo sua formação ou promovem o sequestro destas evitando sua interação com alvos celulares (BARBOSA et al., 2010).

O excesso de radicais livres no organismo é combatido pelos antioxidantes endógenos (produzidos pelo corpo) ou exógenos (absorvidos na dieta) (BARREIROS et al., 2006). O timol e o carvacrol, principais constituintes do óleo essencial de alecrim, são exemplos de terpenóides antioxidantes, pois possuem um grupo hidroxila ligado ao anel aromático. São caracterizados por apresentarem um fraco caráter ácido, sendo, portanto, capazes de doar átomos de hidrogênio com um elétron desemparelhado (LIMA & CARDOSO, 2007).

Os resultados demonstraram que a utilização de óleo essencial na dieta de codornas pode ter favorecido o ambiente intestinal, possibilitando redução da ação dos mecanismos antioxidantes. Dessa forma, há maior disponibilidade de nutrientes, que pode ser destinado para promover melhor desempenho animal, visto que, o metabolismo antioxidante demanda gasto energético.

Neste trabalho, os efeitos positivos dos aditivos testados sobre as variáveis de desempenho, a ausência de efeito sobre as enzimas AST e ALT e a atuação positiva sobre atividade antioxidante no fígado de codornas, pode ser indício de que estes fatores interferiram positivamente no aproveitamento dos nutrientes da dieta, permitindo a manutenção benéfica do trato gastrointestinal, sem sobrecarregar o sistema hepático, excluindo-se assim, a possibilidade de efeitos tóxicos de tais aditivos.

## **5. CONCLUSÃO**

O óleo essencial de alecrim é um potencial melhorador de desempenho de codornas japonesas devido a sua capacidade de melhorar o ambiente intestinal, equilibrando a população microbiana e por reduzir o gasto energético empregado em processos oxidativos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTO, E.; NASCIMENTO, V.; BRAGA, A. Catalytic application of selenium and tellurium compounds as glutathione peroxidase enzyme mimetics. **Jornal Brazilian of Chemics**, v.21, n.11, 2010.

ANDREATTI FILHO, R. L. Paratifo aviário. IN: ANDREATTI FILHO, R. L. **Saúde aviária e doenças**. Ed. Rocca Ltda, São Paulo, cap. 9, p. 112- 117, 2007.

ARAÚJO, J. R.; MARTEL, F. Regulação da Absorção Intestinal de Glicose. **Arquivos de Medicina**, V.23, n.2, p.35-43, 2009.

BARBOSA, A. A.; MÜLLE, E. S.; MORAES, G. H. K.; UMIGI, R. T.; BARRETO, S. L. T.; FERREIRA, R. M. Perfil da aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase e biometria do fígado de codornas japonesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.2, p.308-312, 2010.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre gerações de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BONA, T., PICKLER, L., MIGLINO, L. B., KURITZA, L. N., VASCONCELOS, S. P., SANTIN, E. Óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de Salmonella, Eimeria e Clostridium em frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, 411-418, 2012.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 3, de 17 de janeiro de 2000. Regulamento Técnico de Métodos de Insensibilização para Abate Humanitário de Animais de Açougue. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, Distrito Federal, Seção 1, p. 14, 24 de Janeiro de 2000.

BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. **Animal feed science and technology**, Amsterdam, v. 158, n. 1, p. 1-14, 2010.

BUEGE, J. A., AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in enzymology**, v. 52, p. 302-310, 1978.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

CAMPBELL, T. W. Clinical pathology of Reptiles. In: MADER, D. R. (Ed.). **Reptile Medicine and Surgery**. Florida: Ed. Saunders Elsevier, p. 453-470, 2006.

CAMPBELL, T.W. Bioquímica clínica de aves. In: THRALL, M.A. et al. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, p.415-435, 2007.

CARDOSO-JÚNIOR, G.S. Óleo essencial de alecrim da chapada (*Lippia gracilis shauer*) em dietas de codornas japonesas em crescimento. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Sergipe: UFS, 47f, 2017.

CASTRO, H. G.; PERINI, V. B. M.; SANTOS, G. R.; LEAL, T. C. A. B. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2, p. 308-314, 2010.

CHILANTE, R.B.; KUSSAKAWA, K.C.K.; FLEMMING, J.S. Efeitos da utilização de óleos essenciais na alimentas de aves matrizes pesadas. **Revista Acadêmica Ciência Agrária Ambiental**, v.10, n.4, p.387-394, 2012.

CHORIANOPOULOS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; ALIGIANNIS, N.; MITAKU, S.; NYCHAS, G.; HAROUTOUNIAN, S. A. Essential oils of satureja, origanum, and thymus species: chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 26, p. 8261-8267, 2004.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARD INSTITUTE. Performance Standard for Antibacterial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. publication M100-S25. **Clinical and Laboratory Standard Institute**, Pennsylvania, v. 25, n. 3, 2015.

COSTA, L. B.; TSE, M. L. P.; MIYADA, V. S. Extratos vegetais como alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento para leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, Viçosa, 2007.

DIAS, G. E. A.; CARVALHO, B. O.; GOMES, A. V. C.; MEDEIROS, P. T. C.; SOUSA, F. D. R.; SOUZA, M. M. S.; LIMA, C. A. R. Óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) na dieta de frangos de corte como equilibrador da microbiota intestinal. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, 37(1):108-114, 2015.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**. v. 88, p. 308-316, 2000.

FIGUEIRA, S. V.; MOTA, B. P.; LEONÍDIO, A. R. A.; NASCIMENTO, G. M.; ANDRADE, M. A. Microbiota intestinal das aves de produção. **Enciclopédia biosfera**, v.10, n.18, p. 2181-2208, 2014.

FUDGE, A. M. **Laboratory medicine: Avian and exotic pets**. W.B. Philadelphia: Saunders, 217p. 2000.

FUKAYAMA, E.H.; BERTECHINI, A.G.; GERALDO, A. et al. Extrato de orégano como aditivo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.34, n.6, p.2316-2326, 2005.

GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Eclética Química**, v.36, n.1, p.64-77, 2011.

HARR, K. E. Clinical chemistry of companion avian species: a review. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Barbara, v. 31, n. 3, p. 140–151, 2002.

HUME, M. E. Historic perspective: prebiotics, probiotics, and other alternatives to antibiotics. **Poultry Science**, v. 90, n. 11, p. 2663-2669, 2011.

KOIVULA, M.J.; EEVA, T. Metal-related oxidative stress in birds. **Environmental pollution**, v.158, p.2359– 2370, 2010.



KOIIYAMA, N. T. G.; ROSA, A. P.; PADILHA, M. T. S.; BOEMO, L. S.; SCHER, A.; MELO, A. M. S.; FERNANDES, M. O. Desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com mistura de aditivos fitogênicos na dieta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, n.3, p.225-231, 2014.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G. Família Lamiaceae: Importantes Óleos Essenciais com Ação Biológica e Antioxidante. **Revista Fitos**, v.3, n. 03, 2007.

MAGWA, M. L.; GUNDIDZA, M.; GWERUA, N.; HUMPHREY, G. Chemical composition and biological activities of essential oil from the leaves of *Sesuvium portulacastrum*. **Journal of Ethnopharmacology**, 103: 85-89, 2006.

MEZALIRA, T. S.; OTUTUMI, L. K.; JÚNIOR, R. P.; AMARAL, P. F. G. P.; SUENAGA, S. S. Morfometria do intestino delgado de frangos de corte recebendo dietas suplementadas ou não com probiótico e/ou prebiótico. **Enciclopédia Biosfera** - Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 10, n. 18; p.2246-2256, 2014.

MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, E. S. B.; COSTA, S. M. O.; AGUIAR, L. A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 19(1B): 315-320, 2009.

OETTING, L. L.; UTIYAMA, C. E.; GIANI, P. A.; RUIZ, U. S.; MIYADA, V. S. Efeitos de extratos vegetais e antimicrobianos sobre a digestibilidade aparente, o desempenho, a morfometria dos órgãos e a histologia intestinal de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 35, p. 1389-1397, 2006.

PEREIRA, C. A. M. & MAIA, J. F. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.). **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 27(3): 624-632, 2007.

POLAT, U.; YESILBAG, D.; EREN, M. Serum Biochemical Profile of Broiler Chickens Fed Diets Containing Rosemary and Rosemary Volatile Oil. **Journal of Biodiversity and Environmental Sciences**, Londres, v. 5, n. 13, p. 23-30, 2011.

RIZZO, P. V.; MENTEN, J. F. M.; RACANICCI, A. M. C.; TRALDI, A. B.; SILVA, C. S.; PEREIRA, P. W. Z. Extratos vegetais em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.801-807, 2010.

SANTOS, A.S.; ALVES, S.M.; FIGUEIREDO, F.J.C.; ROCHA NETO, O.G. Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório. Comunicado Técnico 99, **Embrapa**, Bélem-PA, 2004.

SANTOS, M. M.; PEIXOTO, A. R.; PESSOA, E. S.; NEPA, H. B. S.; PAZ, C. D.; SOUZA, A. V. V. Estudos dos constituintes químicos e atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia gracilis* a *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* “*in vitro*”. **Summa Phytopathologica.**, Botucatu, v. 40, n. 3, p. 277-280, 2014.

SANTURIO, D. F.; COSTA, M. M.; MABONI, G.; CAVALHEIRO, C. P.; SÁ, M. F.; POZZO, M. D.; ALVES, S. H.; FRIES, L. L. M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a amostras de *Escherichia coli* isoladas de aves e bovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, Online, ISSN 0103-8478, 2011.

SANTURIO, J.M.; SANTURIO, D.F.; POZZATTI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P. R.; ALVES, S. H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella* entérica de origem avícola. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, p.803-808, 2007.

SILVA, M. A.; PESSOTTI, B. M. S.; ZANINI, S. F.; COLNAGO, G. L.; RODRIGUES, M. R. A.; NUNES, L. C.; ZANINI, M. S.; MARTINS, I. V. F. Intestinal mucosa structure of broiler chickens infected experimentally with *Eimeria tenella* and treated with essential oil of oregano. **Ciência Rural**, v.39, n.5, 2009.

SOUSA, D. R.; ZANINI, S. F.; MUSSI, J. M. S.; MARTINS, J. D.; FANTUZZI, E.; ZANINI, M. S. Óleo de aroeira vermelha e de suplementação de vitamina E em substituição aos promotores de crescimento sobre a microbiota intestinal de frangos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.12, p.2228-2233, dez, 2013.

SUZUKI, O. H.; FLEMMING, J. S.; SILVA, M. E. T. Uso de óleos essenciais® na alimentação de leitões. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 6, n. 4, p. 519-526, 2008.

TEIXEIRA, M.L.; CARDOSO, M.G.; FIGUEIREDO, A.C.G.; MORAES, J.C.; ASSIS, F.A.; ANDRADE, J.; NELSON, D.L.; GOMES, M.S.; SOUZA, J.A.; ALBUQUERQUE, L.R.M. Essential Oils from *Lippia origanoides* Kunth. and *Mentha spicata* L.: Chemical Composition, Insecticidal and Antioxidant Activities. **American Journal of Plant Science**, Versão Online, v. 5, n. 9, p. 1181-1190, 2014.

THRALL, M. A.; BAKER, D. C.; CAMPBELL, T. W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; REBAR, A.; WAISER, G. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 582p., 2007.

TRAESEL, C. K.; LOPES, S.T. A. WOLKMER, P.; SCHMIDT, C.; SANTURIO, J. M.; ALVES, S. H. Óleos essenciais como substituintes de antibióticos promotores de crescimento em frangos de corte: perfil de soroproteínas e peroxidação lipídica. **Ciência Rural**, v.41, n.2, p.278-284, 2011a.

TRAESEL C.K., WOLKMER P., SCHMIDT C., SILVA C.B., PAIM F.C., ROSA A.P., ALVES S.H., SANTURIO J.M.; LOPES S.T.A. Serum biochemical profile and performance of broiler chickens fed diets containing essential oils and pepper. **Comparative Clinical Pathology**, v. 20, n. 5, p. 453-460, 2011b.

WINDISCH, W.; SCHEDLE, K.; PLITZNER, C.; KROISMAYR, A. User of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 140-148, 2008.

YOSHIOKA, T.; KAWADA, K.; SHIMADA, T.; MORI, M. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against active-oxygen toxicity in the blood. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v.135, n.3, p.372-376, 1979.